C 68,55, H 6,71, N 4,44, 2 OCH₃ 19,68, 1 N-CH₃ 4,77; gef. C 68,69, H 6,76, N 4,46, OCH₃ 19,35, N-CH₃ 2,76), Schmp. 171 bis 172°, $[\alpha]_D^{25}$: +110° (CHCl₃), isoliert, die in ihrem IR-Spektrum weitgehend mit Homolycorin übereinstimmt und daher mit diesem diastereomer sein dürfte.

Chemisches Institut der Humboldt-Universität, Berlin

H.-G. BOIT, W. DÖPKE und W. STENDER

Eingegangen am 18. März 1958

¹⁾ BOIT, H.-G., W. STENDER u. A. BEITNER: Chem. Ber. 90, 725 (1957).

The Fries-Rearrangement of α -Naphthyl Trimethylacetate

Only a few examples of a Fries-Rearrangement with esters of trimethylacetic acid appear in the literature^{1),2)}. The catalyst used in these experiments was AlCl₃ and the rearrangement was only successful when carried out in a solvent at relative low temperatures. BALTZLY and co-workers²⁾ showed that only traces of ketonic material could be isolated if the reaction has been run in the absence of a solvent and at elevated temperatures. One of us found³⁾ that SnCl₄ as a catalyst in the Fries-Rearrangement of α -naphthyl acetate (I) produces the ortho isomers almost exclusively under all conditions — that is with and without a solvent. We now have treated a whole series of α -naphthol esters with SnCl₄ and obtained predominantly the corresponding ortho isomers as previously shown³⁾ with I. Interestingly enough, in a large excess of SnCl₄ without the use of a solvent, α -naphthyl trimethylacetate (b.p. 157° at 5 mm Hg, C calc. 78-96, H calc. 7-06; C found 78-82, H found 6-93) rearranges to 2-trimethylacetyl-1-naphthol (II), (m.p. 66 to 68°, C calc. 78-96, H calc. 7-06; C found 78-92, H found 6-99). II was identified by C, H-analysis and by its IR-spectrum, which shows a carbonyl absorption at about 1625 cm⁻¹. This value, in good agreement with data of homologues of II published recently by HUNSBURGER⁴⁾, represents a shift of the carbonyl band to higher wavelength due to hydrogen bonding effects. Another noticeable effect of hydrogen bonding is the weakening of the hydroxyl absorption at approximately 3000 cm⁻¹.

These successful rearrangements of trimethylacetates, especially the one here reported which succeeded in SnCl₄ without a solvent, exclude a mechanism for the Fries-Rearrangement involving a standard oxo-carbonium ion mechanism, since it is well known⁵⁾ that (CH₃)₃C⁺=O decomposes to yield CO + (CH₃)₃C⁺.

A mechanism which takes these facts into account along with details of this investigation will be published elsewhere.

University of Cincinnati Department of Chemistry, Cincinnati 21, Ohio

HANS ZIMMER and RICHARD E. EIBECK

Eingegangen am 22. März 1958

¹⁾ TARBELL, D.S., and P.E. FANTA: J. Amer. Chem. Soc. 65, 2169 (1943). — ²⁾ BALTZLY, R., W.S. IDE and A.P. PHILIPPS: J. Amer. Chem. Soc. 77, 2522 (1955). — ³⁾ D'ANS, J., and H. ZIMMER: Chem. Ber. 85, 585 (1952). — ⁴⁾ HUNSBURGER, I.M.: J. Amer. Soc. 72, 5626 (1950). — ⁵⁾ BOSEKEN, J.: Rec. Trav. Chem. 29, 100 (1910).

Die Trennung der Cobalamine an Ionenaustauschersäulen

Die säulenchromatographische Trennung der Cobalamine konnte bisher nur an Zellulosepulver mit Erfolg betrieben werden¹⁾. Da dieses Verfahren aber noch sehr zeitraubend ist und überdies nur 4 bis 5 Faktoren scharf trennt, stellten wir Untersuchungen an, inwieweit mit Ionenaustauschern eine Trennung erzielt werden kann.

Es zeigte sich zunächst, daß eine Absorption des Vitamins B₁₂ an sauren Harzen in Gegenwart von Anionen (Chlor-, Formiat-, Acetat- und Citrat-Ionen) nicht eintritt. Die Eluierung mit Puffern führt somit nicht zur Trennung. Lediglich Amberlite XE 97, ein schwach saures Carboxylharz, hält das Vitamin bis zu pH-Werten von 4,5 bis 4,7 fest. Bei pH 5 beginnt Cyanocobalamin mit einem R-Wert von 0,025 zu wandern, tritt aber sehr diffus aus.

Andere saure Harze (Dowex 50 in 4-, 8- und 12%iger Divinylbenzolvernetzung, Amberlite XE 69, Merck Austauscher IV) halten nur in der H⁺-Form Cyanocobalamin fest. Da eine kontinuierliche Elution über eine Veränderung des

pH-Wertes bei diesen Harzen aber nicht möglich ist, haben wir versucht, die Ionenaustauschersäule so einzustellen, daß schon eine Eluierung mit reinem Wasser zur Trennung führt. Dies gelingt sehr einfach durch Behandlung des Harzes mit NH₄Cl von bestimmtem pH-Wert und nachfolgende schnelle Elution der Cl⁻-Ionen mit Wasser. Das Harz enthält so H⁺- und NH₄⁺-Ionen in bestimmtem Verhältnis, die mit den zu trennenden Stoffen austauschen können. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist direkt abhängig von der NH₄-Ionenkonzentration und damit nach Belieben wählbar. Wir konnten so bis zu 10 Cobalamine aus den Faeces von Hühnern, die radioaktives Kobaltchlorid (⁶⁰CoCl₂) per os erhalten hatten, trennen. Es ist anzunehmen, daß dieses Prinzip auch bei der Trennung anderer Substanzen Vorteile hat, vor allem dann, wenn Puffersubstanzen bei der weiteren Verarbeitung der Fraktionen stören.

Eine ausführliche Beschreibung der Methodik folgt in einer Fachzeitschrift.

Institut für Tierzucht und Tierfütterung der Universität, Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAVERMANN)

K.H. MENKE

Eingegangen am 28. März 1958

¹⁾ FRIEDRICH, W., u. K. BERNHAUER: Z. Naturforsch. 10b, 6 (1955).

Ein hochempfindliches, spezifisches Sprühreagenz zum Nachweis von Oxyprolin

Die beiden Iminosäuren Prolin und Oxyprolin werden auf Papierchromatogrammen meist nebeneinander nachgewiesen. Die Gelbfärbung mit Ninhydrin ist relativ unempfindlich, das Besprühen mit Isatin liefert mit beiden Iminosäuren ein kaum zu differenzierendes Blau. Mit Hilfe von Kunstgriffen gelingt es, schließlich doch noch die beiden Komponenten gegenseitig abzugrenzen¹⁾, wobei die Methode von KOLOR und ROBERTS²⁾ besonders eindeutig und empfindlich ist.

Wir haben auf der Grundlage der Oxyprolinbestimmung mit Chloramin-T und p-Dimethylaminobenzaldehyd³⁾ ein Reagenz entwickelt, das *nur* mit Oxyprolin auch in Gegenwart aller biologisch vorkommenden Aminosäuren sofort eine rotblaue Farbe liefert und auf welches Prolin nicht anspricht. Die Empfindlichkeit übertrifft nach unseren Erfahrungen alle bisherigen Oxyprolin-nachweise (Fig. 1). Mit Sicherheit sind 0,5 γ Oxyprolin pro 1 cm² auf Papier Schleicher & Schüll 2043b mg/l zu erfassen, was z.B. auch bei der Reinheitsprüfung von Prolin sehr wertvoll ist. Bei einer etwa 100fach höheren Konzentration liefert Prolin einen Fleck, der etwas gelber als der Untergrund gefärbt ist und nach mehreren Tagen in Grün übergeht. Asparaginsäure färbt sich mehrere Tage nach dem Besprühen schwach rosa.

Fig. 1. Aminosäuremischungen mit und ohne Oxyprolin, besprüht mit Chloramin-T/Aldehyd-Reagenz. Die geringe Gelbfärbung einer sehr hohen Prolinmenge (rechts, höherer R_F-Wert) ist rechts von der rotblauen Oxyprolinzone zu erkennen. A 80 γ L-Prolin mit 1 γ L-Oxyprolin verunreinigt. B 40 γ Gelatine-Hydrolysat mit 4,7 γ L-Oxyprolin. C 40 γ Albumin-Hydrolysat (Rind) + 2 γ DL-Tryptophan. D 40 γ Albumin-Hydrolysat + 5 γ L-Oxyprolin. — (Aceton/1% wäbr. NH₃, 75:25)

Als Lösungsmittel für die chromatographische Trennung an Rundfiltern von 20 cm Durchmesser mit Papierdocht 4 $\times$ 30 mm bewährte sich besonders das System Aceton/0,1%iges wäbriges Ammoniak (75:25); auf der Reproduktion (Fig. 2) sind die Aminosäuren in geringerer Konzentration allerdings nicht sichtbar, sofern sie mit Ninhydrin sichtbar gemacht wurden. Der R_F-Wert für Oxyprolin ist 48, für Prolin 55.

Reagenzien: m/50 Chloramin-T-Lösung: 560 mg p-Toluolsulfonchloramidnatrium $\cdot$ 3 H₂O werden in 50 ml Wasser gelöst und mit 50 ml Methanol verdünnt. — Ehrlichsche Aldehydlösung: 5 g p-Dimethylaminobenzaldehyd werden in 70 ml n-Propanol gelöst und mit 5 ml 6N wäbriger Schwefelsäure versetzt. Die Lösungen sind in der Kälte einige Wochen beständig.