

5. mit 1-Phenyl-3-methylpyrazolon (5):

Analog aus 875 mg (0,005 Mol) p-Dimethylaminozimtaldehyd und 870 mg (0,005 Mol) 1-Phenyl-3-methylpyrazolon(5) in Methanol. Man erhält rotviolette Stäbchen vom Fp = 164°. Ausbeute: 1,3 g (83% d. Th.).

$C_{21}H_{21}N_3O$ (331,4)	Ber.: C 76,08	H 6,38	N 12,68
	Gef.: C 76,17	H 6,75	N 12,98

c) mit Sulfonylamiden (Tabelle 3):

1. mit „Eleudron“ ®:

175 mg (0,001 Mol) p-Dimethylaminozimtaldehyd und 255 mg (0,001 Mol) Eleudron ® werden in Alkohol heiß gelöst. Nach Zugabe von 170 mg 60prozentiger Überchlorsäure erfolgt Farbumschlag von gelb nach dunkelrot. Nach einem Tag wird der Niederschlag abgesaugt. Man erhält den Farbstoff in Form von rotbraunen Prismen vom Fp = 193 bis 194° aus Alkohol. Ausbeute quantitativ.

$C_{26}H_{21}ClN_4O_6S_2$ (513,0)	Ber.: N 10,92	S 12,50
	Gef.: N 10,44	S 11,85

2. mit „Globuzid“ ®:

Analog aus 175 mg (0,001 Mol) p-Dimethylaminozimtaldehyd und 284 mg (0,001 Mol) Globuzid ® mit 170 mg 60prozentiger Überchlorsäure in Methanol. Man erhält nach Umkristallisieren aus Alkohol rotbraune Prismen vom Fp = 210–212°. Ausbeute quantitativ.

$C_{21}H_{24}ClN_5O_6S_2$ (542,0)	Ber.: C 46,53	H 4,46	N 12,92
	Gef.: C 45,81	H 4,62	N 12,42

3. mit „Orisul“ ®:

Analog aus 175 mg (0,001 Mol) p-Dimethylaminozimtaldehyd und 314 mg (0,001 Mol) Orisul ® mit 170 mg 60prozentiger Überchlorsäure in Äthanol. Man erhält aus Alkohol blaue Nadeln vom Fp = 220°. Ausbeute quantitativ.

$C_{26}H_{26}ClN_5O_6S$ (572,0)	Ber.: C 54,60	H 4,58	N 12,24	S 5,60
	Gef.: C 53,85	H 4,81	N 11,79	S 5,48

Anschrift: Prof. Dr. M. Strell, Org. chem. Inst. der T. H., München

1934. K. Winterfeld und G. Bernsmann

Zur Kenntnis der Inhaltsstoffe von *Catha edulis* Forskal*)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 18. Juli 1960)

Die Blätter und jungen Triebe von *Catha edulis* Forskal, auch „Kat“ genannt, werden bereits seit Jahrhunderten in Abessinien, Somaliland und Südwestarabien als Anregungs- und Genußmittel verwendet.

A. Beitter¹⁾ isolierte 1900 geringe Mengen einer amorphen Base „Katin“, einen Befund, den 1911 J. Chevalier²⁾ bestätigte. 1912 berichtete R. Stockman³⁾ über die

*) Herrn Prof. Dr. K. Mothes zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹⁾ Dissertation Straßburg 1900.

²⁾ C. A. 6, 254 (1912).

³⁾ Pharmac. J. 89, 677 (1912).

Isolierung von 3 Alkaloiden, Cathinin, Cathidin und Cathin aus den Blättern von *Catha edulis*, von denen Cathin nach *O. Wolfes*⁴⁾ mit D-nor-iso-Ephedrin (I) identisch ist.

M. R. Paris und *H. Moyses*⁵⁾ konnten 1957 in einem Chloroformextrakt aus den Blättern papierchromatographisch 3 Flecken nachweisen, von denen zwei mit Ninhydrin und einer mit Dragendorffs-Reagenz anfärbbar waren. Daraus schlossen die Autoren auf die Anwesenheit von drei Alkaloiden, von denen jedoch nur eines eindeutig als D-nor-iso-Ephedrin charakterisiert werden konnte. Im Gegensatz dazu lieferte die Papierelektrophorese des Chloroformauszuges fünf orangerote Flecken von verschiedenen R_f -Werten. Im Alkoholextrakt der Droge wurden papierchromatographisch sechs Flecken nachgewiesen, die sich mit Ninhydrin anfärben ließen.

Diese unterschiedlichen Befunde veranlaßten uns zu einer erneuten Nachprüfung der Befunde von *Stockman*³⁾, *Wolfes*⁴⁾ und *Paris* und *Moyse*⁵⁾. Wir verwandten Blätter und junge Triebe der Frischdroge. Bei der Aufarbeitung nach *Stockman* konnte im Chloroformauszug papierchromatographisch nur ein Fleck nachgewiesen werden, dessen R_f -Wert mit D-nor-iso-Ephedrin übereinstimmte. Cathidin und Cathinin waren nicht aufzufinden. Zu dem gleichen Ergebnis führte die Nacharbeit nach *Wolfes* bzw. *Paris* und *Moyse*.

Da wir entgegen den Angaben der genannten Autoren nur D-nor-iso-Ephedrin fanden, versuchten wir trotzdem evtl. vorhandene weitere Alkaloide durch Behandlung der Droge mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln bei wechselndem p_H -Wert zu isolieren. Alle Extrakte zeigten jedoch im Papierchromatogramm nur einen mit I identischen Fleck.

Um eventuell noch vorhandene Phenolbasen, die sich alkalisch mit organischen Lösungsmitteln nicht ausschütteln lassen, zu erfassen, extrahierten wir die Frischdroge mit 0,2 proz. Salzsäure. Dadurch sollten einmal Basen in die wasserlösliche Salzform übergeführt, zum anderen glycosidische- oder Gerbstoffbindungen gespalten werden. Zur schonenden Einengung der Extraktionsflüssigkeiten benutzten wir die Gefriertrocknung. Die getrockneten Extrakte waren hell- bis dunkelbraun gefärbt und sehr hygroskopisch. Im Papierchromatogramm war eine Reihe mit Ninhydrin- und Folin-Reagenz anfärbbarer Flecken vorhanden.

Zur Isolierung evtl. vorhandener Alkaloide wurde der Gefriertrockenextrakt, wie die nachstehende Tabelle 1 zu erkennen gibt, über verschiedene Austauscher (H^+ - bzw. Na^+ -Form) geschickt (Tabelle I).

⁴⁾ Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 268, 81 (1930).

⁵⁾ Annal. Pharmac. Francaises, 15, 89 (1957).

Tabelle 1

Versuch Nr.	Ethismer nichtalkalischer Reseifenbestandzen				Ethisierungsmittel für die Alkaloide			
	Austauscher- harz	n/10 HCl	n-NH ₄ OH	Ammoniak Ammonchlorid Puffer	2% NaOH	5% ammoniak. Äthanol D-nor-iso- Ephedrin	5% ammoniak. absol. Äthanol	5% ammoniak. Äthanol H ₂ O (1 : 1)
1	Amberlite I. R. 120 H ⁺ -Form	basische Amino- säuren	basische Amino- säuren					
2	Amberlite I. R. 120 H ⁺ -Form			basische neutrale saure Aminosäuren			D-nor-iso- Ephedrin	D-nor-iso-Ephneurm eine basische Aminosäure
3	Amberlite I. R. 120 Na ⁺ -Form			basische, neutrale, saure Aminosäuren			D-nor-iso- Ephedrin	
4	Dnolite C-10 Na ⁺ -Form			D-nor-iso- Ephedrin basische, saure, neutrale Aminosäuren			D-nor-iso- Ephedrin	eine basische Aminosäure
5	Amberlite I. R. C. 50 Na ⁺ -Form						D-nor-iso- Ephedrin basische Aminosäuren	<u>Acetonolnet</u>
6	Amberlite I. R. 120 Na ⁺ -Form				basische, saure, neutrale Amino- säuren			D-nor-iso- Ephedrin

Eluiert wurde mit $n/10$ HCl. Im salzsauren Eluat waren papierchromatographisch 5 mit Ninhydrin anfärbbare Flecken nachweisbar, von denen sich einer durch einen geringen R_f -Wert und durch seine Farbe von den übrigen deutlich unterschied.

Die Eluierung mit n -Ammoniaklösung führte zu den gleichen Befunden. Wie sich später herausstellte, handelt es sich um basische Aminosäuren, die von Harzaustauschern mit stark sauren Gruppen adsorbiert und durch Salzsäure bzw. Ammoniakflüssigkeit abgelöst werden. I war auf der Säule haften geblieben und ließ sich mit 5 proz. ammoniakalischem Äthanol ablösen.

Wurde zur Elution Ammoniak-Ammonchlorid Pufferlösung verwandt, dann konnten je nach dem verwandten Harz basische und neutrale Aminosäuren und evtl. noch vorhandenes I abgelöst werden.

Zur Trennung der einzelnen Aminosäuren wurde laut nachstehender Tabelle das Ammoniak-Ammonchlorideluat über den Austauscher Dowex 50×8 Na^+ -Form geschickt (Tabelle 2).

Tabelle 2

Ammonchlorid-Ammoniakpuffer bzw. Gefriertrockenextrakt

15 cm Säule Dowex 50		100 cm Säule Dowex 50	
saure u. neutrale Aminosäuren	Na-Citrat- Puffer p_H 5	Na-Citrat- Puffer p_H 3,42	Asparagin Threonin Serin Glutaminsäure Prolin Glycin Substanz X Alanin
γ -Aminobuttersäure Histidin Tryptophan Ornithin	Na-Phosphat- Puffer p_H 6,8	Na-Citrat- Puffer p_H 4,25 50°	Valin Leuzin Isoleuzin
Arginin	Na-Citrat- Puffer p_H 6,5	Na-Citrat- Puffer p_H 4,25 75°	Phenylalanin Tyrosin

Die einzelnen Eluate wurden in Fraktionen von 1 ml aufgefangen und papierchromatographisch untersucht. Mit Ninhydrin- bzw. Isatinreagenz traten gruppenweise mehr oder weniger starke Färbungen auf.

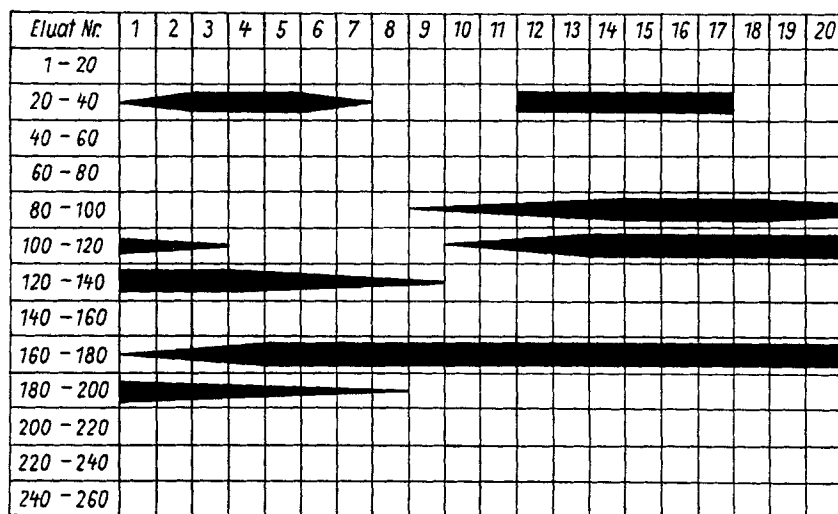


Tabelle 3

Auswertung der Chromatogramme

Natriumcitrat- Puffer pH 5,0	Fraktionen 5—13	saure Aminosäuren neutrale Aminosäuren γ -Aminobuttersäure Histidin, Tryptophan
	Fraktionen 21—27	
	Fraktionen 32—37	
	Fraktionen 89—103	
Natriumcitrat- Puffer pH 6,5	Fraktionen 110—129	Ornithin Arginin
	Fraktionen 160—208	

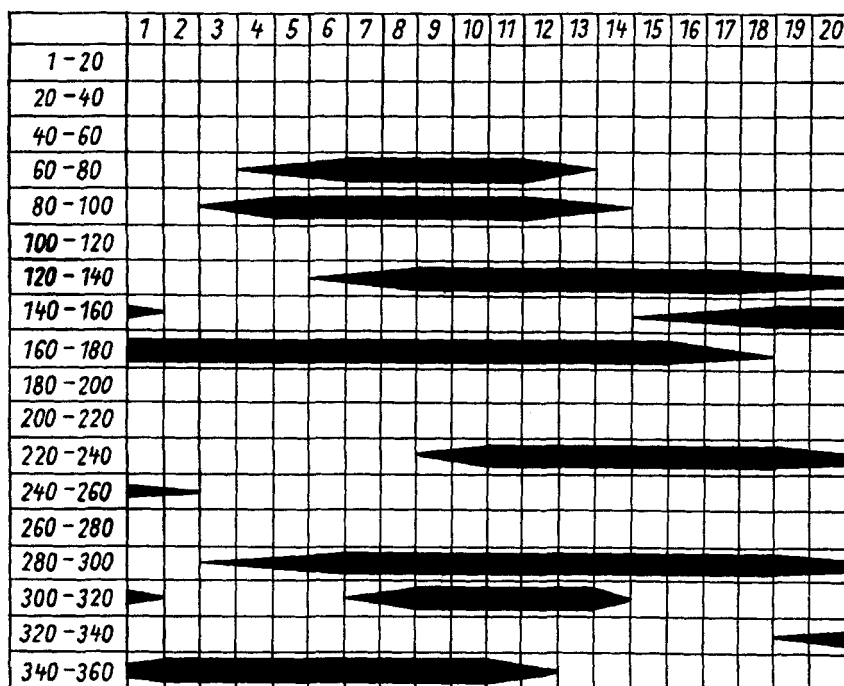
Die Eluate mit positiven Färbungen wurden vereinigt. Die sauren und neutralen Aminosäuren befanden sich in den ersten Fraktionen (1—37).

In der zweiten Fraktionsgruppe (89—103) konnten Histidin und Tryptophan nachgewiesen werden. Die Intensität des Tryptophanfleckens war nicht sonderlich gut. Nach Angaben verschiedener Autoren⁶⁾ läßt sich diese Aminosäure in nur 25%iger Ausbeute vom Austauschler zurückgewinnen, da durch die SO_3H -Gruppe des Harzaustauschers eine weitgehende Zerstörung erfolgt. In den Fraktionen 110—129 wurde Ornithin nachgewiesen. Seine Identifizierung bereitete insofern Schwierigkeiten, als in diesem Fraktionsbereich Ornithin, Hydrolysin und Lysin auftreten können, die sich alle mit Ninhydrin-, Folins-Reagenz, 10 proz. Perjodsäure und Nessler's Reagenz anfärben lassen. Erst durch Verwendung von Phenol (gesättigt mit einer 6,7 proz. Natriumcitrat-, 1,7 proz. Kaliumdihydrogenphosphat-, 0,5 proz. Ascorbinsäurelösung) als mobile Phase konnte Ornithin eindeutig charakterisiert werden. In der letzten Fraktionsgruppe wurde Arginin nachgewiesen.

⁶⁾ G. Krampitz und R. Müller, Zeitschr. f. Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde, 14, 1, (1959).

Die neutralen und sauren Aminosäuren wurden mit Dowex 50 $\times$ 8, 200—400 mesh, getrennt. Eluiert wurde bis zur 275. Fraktion bei einer Temperatur von 37,5° mit Natriumcitratpufferlösung ($p_H = 3,42$); bis zur 300. Fraktion mit Pufferlösung ($p_H = 4,25$) Temp. 50° und bis zur 360. Fraktion unter Temperaturerhöhung auf 75° mit dem gleichen Puffer.

Proben der einzelnen Fraktionen wurden papierchromatographisch untersucht. Die einzelnen Ninhydrin- bzw. Isatinpositiven Eluate wurden zusammengefaßt.



Die positiven Eluatgruppen wurden vereinigt und mit Lewatit S 100 entsalzt.

Folgende saure und neutrale Aminosäuren konnten isoliert werden:

Tabelle 4

Auswertung der Chromatogramme der neutralen und sauren Aminosäuren

Natriumcitrat- Puffer p_H 3,42	Fraktionen 64—73	Asparaginsäure
	Fraktionen 83—94	Threonin, Serin
	Fraktionen 126—141	Glutaminsäure, Prolin
	Fraktionen 155—178	Glycin, Alanin, Substanz X
Natriumcitrat- Puffer p_H 4,25	Fraktionen 229—242	Valin
	Fraktionen 283—301	Leuzin
	Fraktionen 307—313	Isoleuzin
	Fraktionen 339—352	Phenylalanin, Tyrosin

Die Substanz x (R_f 0,58), die sich mit Ninhydrin gelb anfärben ließ, konnte nicht identifiziert werden. Sie trat in den Fraktionen zusammen mit Glycin und Alanin auf und war nicht identisch mit Prolin bzw. Oxyprolin.

Auf Grund unserer Untersuchungen enthält der Cath-Strauch als Alkaloidanteil nur D-nor-iso-Ephedrin, daneben wurden 17 Aminosäuren gefunden: Asparaginsäure, Threonin, Serin, Glutaminsäure, Prolin, Glycin, Alanin, Substanz x, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tyrosin. Die mit Ninhydrin-, Folin- und nur vorübergehend mit Dragendorff-Reagenz anfärbbaren Flecke stammen von basischen Aminosäuren.

Beschreibung der Versuche

1 kg frische Blätter von *Catha edulis* Forskal wurde in einem Fleischwolf zerkleinert, anschließend zweimal mit je 3 l 0,2%iger Salzsäure kalt mazeriert und ausgepreßt. Aus dem rotbraun gefärbten Extrakt konnte durch Gefriertrocknung ein trockenes, sehr hygroskopisches Pulver erhalten werden (Ausbeute 23—25%).

Isolierung von D-nor-iso-Ephedrin(I) über den Ionenaustauscher Amberlite IR 120 Na⁺-Form

Vorbehandlung des Harzes

500 ml Harz wurden mit Wasser dekantiert, anschließend mit 3—5 l 4 n HCl versetzt und bis zur Cl⁻-Freiheit gewaschen. Dann wurde das Harz mit dem vierfachen Volumen 2 n NaOH aufgeschlämmt und 2 Stdn. unter zeitweisigem Umrühren auf dem Wasserbad erwärmt. In Abständen von 30 Min. wurde die Flüssigkeit durch frische heiße Natronlauge ersetzt. Anschließend wurde alkalifrei gewaschen.

Eluierung von I

Versuch I

Eine 30%ige wäßrige Lösung des Gefriertrockenextraktes wurde durch eine Säule (1 m lang, 2,4 cm Ø), die mit dem vorbehandelten Harz gefüllt war, mit einer Geschwindigkeit von 20 Tropfen Min. filtriert. Nach Einsickern der Extraktlösung wurde der Abflußhahn eine Stunde lang geschlossen. Die Aminosäuren wurden mit 250 ml 2%iger Natronlauge ausgewaschen. Nach Durchlauf der gesamten Flüssigkeit wurde das Harz aus der Säule entfernt und im Exsikkator getrocknet. Durch dreimaliges Schütteln mit je 200 ml Aceton ließ sich I vom Amberliteharz ablösen. Die Acetonlösung wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 15 ml absol. Äthanol aufgenommen und mit einigen Tropfen Schwefelsäure versetzt.

Sulfat von I Schmp. 293° (Lit. 295°). Mischschmp. 293,5°.

Papierchromatographischer Nachweis

Mobile Phase

n-Butanol: Eisessig (90 : 22,5) mit etwa 90 ml Wasser bis zur eben auftretenden Trübung versetzt.

Papier: Schleicher & Schüll, Nr. 2043b mgl. mit m/5 KCl behandelt.

3 Stdn. gesättigt, 15 Stdn. aufsteigend chromatographiert. Detektiert mit Ninhydrinlösung.

Die Farbflecke ließen sich nach *Th. Wieland*⁷⁾ mit Kupferreagenz stabilisieren.

Bei Versuch 2 wurde statt mit 2%iger Natronlauge mit gepufferter Ammoniak-Ammonchloridlösung eluiert. Im Eluat ließen sich genau wie im Eluat Versuch 1 mit Ninhydrin anfärbbare Flecken nachweisen.

Trennung der basischen Aminosäuren über Dowex 50 (Na⁺-Form)

Vorbehandlung des Austauschharzes

400 g Dowex (50 × 8) 200—400 mesh wurden mit etwa 5 l 4 n HCl behandelt, mit Wasser chloridfrei gewaschen und anschließend mit n NaOH unter Umrühren und 2stdg. Erwärmen auf dem Wasserbad in die Na⁺-Form übergeführt. Von Zeit zu Zeit wurde frische heiße n NaOH zugegeben. Nach zweimaligem Aufschlännen des Na-Dowex 50 × 8 mit Eluierungspuffer (p_H = 5,0) wurde das Harz mit dem gleichen Puffer in eine Glassäule (Länge 25 cm, 0,9 cm Ø) bis zu einer Höhe von 15 cm eingespült und mit Unterdruck verfestigt. Zur vollständigen Äquilibration wurden nochmals 50 ml Puffer durch die Säule filtriert. Die Säule wurde an einen vollautomatischen Fraktionssammler angeschlossen.

Trennung der Aminosäuren

100 mg des zur Trockne eingedampften Ammoniak-Ammonchlorideluates (Versuch 2) wurden in 2 ml Pufferlösung (p_H = 5,0) gelöst über die Säule geschickt. Anschließend wurde 2mal mit 0,5 ml Pufferlösung (p_H = 5,0) eingewaschen. Sodann wurde mit dem gleichen Puffer bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 4 ml/h bis zur 25. Fraktion eluiert. Anschließend wurde mit Phosphatpuffer (p_H = 6,8) bis zur 110. Fraktion eluiert und dann bis zur 250. Fraktion mit Natriumcitratpuffer (p_H = 6,5).

Die einzelnen Eluate wurden papierchromatographisch untersucht. Es traten dabei gruppenweise Fraktionen auf, die mit Ninhydrin anfärbbare Substanzen enthielten. Diese wurden für sich vereinigt.

Entsalzung der Fraktionsgruppen

Zur Identifizierung der getrennten Aminosäuren wurde der saure Lewatit S 100 Austauscher durch dreimaliges abwechselndes Waschen mit 0,5 n HCl und Wasser in die H⁺-Form übergeführt, bis zu einer Höhe von 20 cm in ein 1 cm weites Rohr eingefüllt und mit den zu entsalzenden Fraktionen beschickt. Die Salze der Pufferlösungen wurden mit dest. Wasser ausgewaschen. Die Aminosäuren ließen sich mit 100 ml n/2 Ammoniaklösung eluieren. Die Eluate wurden bei 40° i. Vak. eingeeengt und der Trockenrückstand mit 0,2 ml einer Isopropanol- $\frac{n}{100}$ -HCl-Mischung (1 : 1) aufgenommen.

Papierchromatographische Identifizierung der basischen Aminosäuren

Verwandt wurden 1%ige Lösungen.

Mobile Phase: sek. Butanol-Ameisensäure (98%) — Wasser: (65 : 15 : 20).

Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043b mgl.

Aufsteigendes Verfahren, detektiert mit Ninhydrin-Reagenz.

⁷⁾ Nature (London) 168, 77 (1951).

Auswertung der Chromatogramme

Tabelle 3

Trennung der sauren und neutralen Aminosäuren mit Austauscher Dowex
50 × 8

Vorbehandlung des Harzes

Ein Glasrohr (110 cm × 0,9 cm) wurde mit einem an den Enden verschlossenen Wärmemantel umgeben, der mit einem Umlaufthermostaten beheizt wurde. Dowex (50 × 8, 200—400 mesh) Na⁺-Form wurde mehrmals mit Puffer p_H = 3,42 gewaschen und in Portionen von 50 ml bis zu einer Höhe von genau 100 cm in das Adsorptionsrohr gespült. Nach der Äquilibrierung mit dem genannten Puffer (etwa 120 ml) wurde die Säule an den Fraktionssammler angeschlossen.

Trennung der Aminosäuren

Vor Beginn der Analyse wurde die Temperatur im Wärmemantel auf 37,5° gebracht. 100 mg des Ammoniak-Ammonchlorid-Puffers (Versuch II) wurden in 2 ml Puffer (p_H = 3,42) gelöst in Anteilen von je 0,5 ml auf das Harz gebracht. Nach dem Einsickern wurde mit Puffer (p_H = 3,42) eluiert (Perkolationsgeschwindigkeit 4 ml/h). Die Eluate wurden in Fraktionen von 1 ml aufgefangen. Nach der 225. Fraktion wurde mit Natriumcitratpuffer (p_H = 4,25) unter Temperaturerhöhung auf 50° eluiert. Nach der 300. Fraktion wurde die Temperatur auf 75° gesteigert. Die einzelnen Fraktionen wurden papierchromatographisch untersucht. Detektiert wurde mit Ninhydrin- und Isatinreagenz. Die mit diesen Reagenzien anfärbbaren Fraktionen wurden zusammengefaßt, es ergaben sich 8 Gruppen.

Identifizierung der sauren und neutralen Aminosäuren

Die 1 ml Eluate der einzelnen positiv anfärbbaren Gruppen wurden getrennt für sich vereinigt und über Lewatit S 100 Austauscherharz entsalzt. Die Eluate wurden i. Vak. eingedampft und der Rückstand mit 0,2 ml einer Isopropanol- $\frac{n}{100}$ -HCl-Mischung aufgenommen.

Papierchromatographische Untersuchung

Lösungsmittel: sek. Butanol-Ameisensäure-Wasser (65 : 15 : 20).

Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043b mgl.

Auswertung der Chromatogramme

Tabelle 4

Herstellung der Pufferlösungen

Zusammensetzung nach W. H. Stein und S. Moore⁸⁾.

p _H 3,42 ± 0,01	500 ml Na-Citrat p _H 5,00 110 ml n-HCl 390 ml Aq. dest. 0,5 ml Thiodiglykol auf 100 ml Puffer
p _H 4,25 ± 0,05	500 ml Na-Citrat p _H 5,00 50 ml n-HCl 450 ml Aq. dest. 0,5 ml Thiodiglykol auf 100 ml Puffer 1,0 ml Benzylalkohol auf 100 ml Puffer

⁸⁾ J. Biol. Chem. 192, 663 (1951).

Fortsetzung von Tabelle 4

$p_H 5,0 \pm 0,1$	500 ml Na-Citrat $p_H 5,0$ 500 ml Aq. dest. 0,1 g Titriplex III (Merck, Darmstadt) auf 100 ml Puffer 1 ml Benzylalkohol
$p_H 6,8 \pm 0,03$	500 ml 0,1 m $Na_2 HPO_4$ 450 ml 0,1 m $Na H_2PO_4 \cdot H_2O$ 0,1 g Titriplex III auf 100 ml Puffer 1 ml Benzylalkohol auf 100 ml Puffer
$p_H 5,5 \pm 0,05$	42 g Zitronensäure p. A. 580 ml n-NaOH 0,1 g Titriplex III auf 100 ml Puffer 0,1 ml Benzylalkohol auf 100 ml Puffer Auffüllen der Lösung auf 1 l mit Aq. dest.

Die Einstellung erfolgte mit einem p_H -Meßgerät. Kurz vor Gebrauch der Pufferlösung wurden pro Liter Eluierungsflüssigkeit 5 ml Polyäthylenglykoläther BRIJ 35 zugesetzt, um eine Erhöhung der Durchflußgeschwindigkeit auf 4 ml/h zu erzielen. Stabilisiert wurden die Lösungen mit Thymol (1 g/5 l). Thiodiglykol wurde als Antioxydans zugegeben, der Benzylalkohol soll die Trennung der einzelnen Aminosäuren verbessern. Titriplex III gewährleistet auch nach wiederholter Benutzung der Säulen eine quantitative Eluierung basischer Aminosäuren⁹⁾.

Eine Quellung und Schrumpfung und die dadurch bedingte Kanalbildung oder Verstopfung des Harzbettes ließ sich weitgehend durch ein Konstanthalten der Natriumkonzentration (etwa 2 molar) in der Pufferlösung zurückdrängen.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür wir herzlich danken.

Dem damaligen deutschen Botschafter in Äthiopien, Herrn Dr. Bidder, danken wir für die Vermittlung der Zusendung der frischen Droge per Flugpost und für das stete Interesse, das er unserer Arbeit entgegengebracht hat.

⁹⁾ R. Müller und G. Krampitz, Zeitschr. f. Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde 11, 1 (1956).