

Arachidonsäure-Gehalt der Rattenleber kann durch die antioxydativen Eigenschaften des Vitamins E bedingt sein und vielleicht auch nach Gaben anderer Antioxydantien auftreten, was wir zu prüfen gedenken.

Ferner besteht die Möglichkeit, dass nicht nur die von MEAD & HOWTON⁶⁾ erstmalig gezeigte Bildung der Arachidonsäure aus Linolsäure, sondern auch die von KLENK *et al.*⁷⁾ bewiesenen Kettenverlängerungen anderer Polyenfettsäuren durch Vitamin E beeinflusst werden.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Mitteln des SCHWEIZ. NATIONALFONDS durchgeführt.

SUMMARY

The liver lipids of rats on a vitamin E-free diet showed much higher contents of arachidonic acid than control animals receiving α -Tocopherol.

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Basel

⁶⁾ J. F. MEAD & D. R. HOWTON, *J. biol. Chemistry* **229**, 575 (1957).

⁷⁾ E. KLENK, K. OETTE, J. KOHLER & H. SCHÖLL, *Z. physiol. Chem.* **323**, 270 (1961).

195. Neuere Untersuchungen zur präparativen Dünnschichtchromatographie

von C. G. HONEGGER

(22. VI. 63)

Über die Beeinflussung des Rf-Wertes einer Substanz in der Dünnschichtchromatographie bei erhöhter Schichtdicke (über 0,25 mm) liegen nur vereinzelte Untersuchungen vor. Wie bei normaler Schichtdicke¹⁾, beeinflussen auch hier zahlreiche Faktoren den Sättigungsgrad der Atmosphäre in der Trennkammer, Aktivitätsgrad der Adsorptionsschicht und Temperatur die relativen Wanderungsgeschwindigkeiten. Bei früheren Versuchen²⁾ an dicken Adsorptionsschichten wurde eine verschiedene Wanderungsgeschwindigkeit einer Substanz an der Oberfläche der Adsorptionsschicht gegenüber tieferliegenden Schichten beobachtet; in Anbetracht der Verwendbarkeit dickerer Adsorptionsschichten zur präparativen Dünnschichtchromatographie ist die nähere Kenntnis der dafür verantwortlichen Faktoren bedeutungsvoll.

Eine Abhängigkeit der Rf-Werte (von Indophenol, Sudanrot G und Buttergelb) im Sinne einer Zunahme mit der Schichtdicke wurde kürzlich von PATAKI & KELLER⁴⁾ bei Kammersättigung (Laufmittel⁵⁾) auf luftgetrockneten Kieselgel-G-Schichten (0,25–1 mm) beschrieben. Wir bestimmten die Rf-Werte auf Schichtdicken von 0,2–3 mm in vier Kammersystemen: Normaler Sättigungsgrad (KN),

¹⁾ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI & A. R. FAHMY, *Experientia* **18**, 101 (1962).

²⁾ C. G. HONEGGER, *Helv.* **46**, 1730 (1963).

³⁾ C. G. HONEGGER, *Helv.* **45**, 1409 (1962).

⁴⁾ G. PATAKI & M. KELLER, *Helv.* **46**, 1054 (1963).

⁵⁾ Im Laufmittel Benzol (G. PATAKI, persönliche Mitteilung).

Rf-Werte und Trennzeit von Indophenol (I), Sudanrot G (S) und Buttergelb (B) in verschiedenen Kammerensystemen

Trennkammer, Temperatur, Anzahl Versuche	Aktivierung	Laufzeit	Rf-Werte und Schichtdicke					
			I		S		B	
			~0,25	3 mm	~0,25	3 mm	~0,25	3 mm
a) 23° KN 1	24 h Luft	35'55"	0,13	- 0,34	0,27	- 0,47	0,67	- 0,79
1	72 h Luft	41'43"	0,19	- 0,19	0,34	- 0,32	0,75	- 0,77
SN 1	24 h Luft	28'00"	0,16	- 0,31	0,29	- 0,49	0,62	- 0,80
1	72 h Luft	32'40"	0,19	- 0,18	0,30	- 0,30	0,65	- 0,65
K 1	24 h Luft	24'40"	0,09	- 0,24	0,25	- 0,38	0,51	- 0,68
1	72 h Luft	22'50"	0,12	- 0,15	0,22	- 0,28	0,50	- 0,60
SK 1	24 h Luft	20'35"	0,08	- 0,31	0,18	- 0,45	0,45	- 0,72
1	72 h Luft	19'35"	0,12	- 0,13	0,20	- 0,28	0,46	- 0,59
*) SN 2	24 h Hitze	47'32" ± 1'57"	0,08 ± 0,01	- 0,1 ± 0,00	0,21 ± 0,01	- 0,23 ± 0,02	0,55 ± 0,01	- 0,54 ± 0,03
K 3	24 h Hitze	37'28" ± 1'58"	0,06 ± 0,01	- 0,06 ± 0,02	0,15 ± 0,01	- 0,17 ± 0,00	0,41 ± 0,01	- 0,43 ± 0,01
SK 3	24 h Hitze	30'48" ± 1'40"	0,05 ± 0,02	- 0,07 ± 0,02	0,13 ± 0,02	- 0,18 ± 0,02	0,38 ± 0,02	- 0,44 ± 0,02
*) K 2	24 h Hitze 48 h Luft desaktiviert	34'09" ± 4'00"	0,08 ± 0,00	- 0,1 ± 0,00	0,17 ± 0,00	- 0,23 ± 0,01	0,43 ± 0,01	- 0,51 ± 0,02
b) 4° SN 1	24 h Hitze	36'30"	0,05	- 0,04	0,16	- 0,15	0,50	- 0,45
K 1	24 h Hitze	31'45"	0,03	- 0,02	0,10	- 0,10	0,36	- 0,36
SK 1	24 h Hitze	26'50"	0,03	- 0,03	0,10	- 0,13	0,32	- 0,41

*) Laufzeit und Rf-Werte als Mittelwerte angegeben.

Kammersättigung (K), Schmalkammer (SN) und gesättigte Schmalkammer (SK), welche bereits früher²⁾ Verwendung fanden. Zusätzlich wurde dem Einfluss der Temperatur Beachtung geschenkt. Wir arbeiteten mit luft- sowie hitzegetrockneten Kiesel-G-Schichten (MÉRCK) von kontinuierlich ansteigender Dicke (0,2–3 mm), durch gleichmässiges Abtragen der 3 mm dicken Adsorptionsschicht hergestellt. Solche Platten können mit Erfolg auch zur Ermittlung der optimalen Schichtdicke für die präparative Dünnschichtchromatographie herangezogen werden. In den 4 Kammersystemen wurde das Testgemisch DESAGA im Laufmittel Benzol aufgetrennt. Die Ergebnisse (s. Tabelle) zeigen folgende Regelmässigkeiten.

1. *Laufzeit*: Die Laufzeit verkürzt sich mit der Zunahme des Sättigungsgrades von der Kammer mit Normalsättigung (KN) zur gesättigten Schmalkammer (SK). Dies stimmt mit den Befunden bei normaler Schichtdicke (Laufmittel Benzol) überein²⁾. Die Aktivierungsart der Adsorptionsschicht spielt eine wesentliche Rolle; luftgetrocknete Schichten zeigen gegenüber hitzeaktivierten eine kürzere Laufzeit. Dies hängt möglicherweise auch damit zusammen, dass hitzeaktivierte Schichten eine etwas dichtere Packung des Adsorbens aufweisen. Dabei fallen jedoch die Laufzeiten von 24 h luftaktivierten Schichten mit höherem Wassergehalt aus dem Rahmen. Sie weisen gegenüber den 72 h luftaktivierten Schichten in der K- und SK-Kammer eine längere Laufzeit auf. Die Unterschiede sind allerdings gering (die Bestimmung der Laufzeit weist an und für sich schon einen Fehler von ca. 30 Sek. auf). Ebenfalls wird die Trennzeit durch die Arbeitstemperatur beeinflusst. Auf hitzeaktivierten Schichten tritt bei 4° gegenüber 23° eine Verkürzung auf. Inwieweit dabei eine Desaktivierung der Schicht mitspielt, ist schwierig zu beurteilen. Auf alle Fälle sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von GEISS & SCHLITT⁶⁾ mit hitzeaktivierten Schichten normaler Dicke im Auge zu behalten, welche der relativen Feuchte der Raumtemperatur während des Auftragens der Substanzen und während der Auftrennung in der Trennkammer den wesentlichen Einfluss auf die Rf-Werte zuschrieben.

2. *Rf-Werte*: Zur Beurteilung der verschiedenen Einflüsse auf den Rf-Wert seien die einzelnen Faktoren getrennt besprochen.

a) *Schichtdicke*: Bei 24 h luftgetrockneten Schichten ist in allen Kammer-systemen eine Erhöhung des Rf-Wertes mit zunehmender Schichtdicke (0,25–3 mm) zu beobachten, bei 72 h luftgetrockneten Schichten nur in den Kammern K und SK. Die von PATAKI & KELLER⁴⁾ beschriebene Zunahme der Rf-Werte bei Kammer-sättigung im Schichtdickenbereich von 0,25–1 mm, können wir – auch bei 1–3 mm Schichtdicke – bestätigen. Eine Erhöhung des Rf-Wertes mit der Schichtdicke ist ebenfalls bei Kammersättigung auf desaktivierten Schichten sowie in der gesättigten Schmalkammer auf hitzeaktivierten Schichten bei 23° und bei 4° Trenntemperatur zu beobachten. Bei denselben Bedingungen tritt in der SN- und der K-Kammer keine Erhöhung des Rf-Wertes auf⁷⁾.

b) *Sättigungsgrad*: Die Zunahme des Rf-Wertes geht parallel mit der Abnahme des Sättigungsgrades, also in der Reihenfolge: SK-, K-, SN-, KN-Kammer, wie dies auch bei normaler Schichtdicke der Fall ist²⁾.

⁶⁾ F. GEISS & H. SCHLITT, *Naturw.* 50, 350 (1963).

⁷⁾ Auf 24 h hitzeaktivierten Schichten konnte im Lauf Chloroform:Methanol = 4:1 für Cholesterin eine Abnahme des Rf-Wertes mit zunehmender Schichtdicke beobachtet werden.

c) *Aktivität*: Die Beeinflussung des Rf-Wertes durch die Aktivierungsart der Adsorptionsschicht ist wesentlich. Die Rf-Werte steigen mit dem Wassergehalt, wie dies GEISS & SCHLITT⁶⁾ bei normaler Schichtdicke beschrieben. Die Wanderungswerte nehmen demnach in der Reihenfolge hitzeaktivierte < luftdesaktivierte < 72 h < 24 h luftgetrocknete Schichten zu. Abweichungen treten bei luftgetrockneten Schichten im Bereich von 0,25 mm auf, da nämlich die während 72 h getrockneten Schichten höhere Rf-Werte aufweisen. Dabei ist zu bedenken, dass die Bestimmung der Schichtdicke von 0,25 mm nicht exakt durchgeführt wurde. Das Abtragen der Schichten auf eine kontinuierlich ansteigende Schichtdicke erfolgte ca. 5 h vor der Auftrennung, daher ist das Auftreten zusätzlicher Aktivitätsunterschiede der Adsorptionsschicht nicht ganz auszuschliessen.

d) *Temperatur*: Im Bereiche von 0,25–3 mm Schichtdicke werden in 3 Kammer-systemen bei 4° kleinere Rf-Werte als bei entsprechenden Bedingungen bei 23° beobachtet.

3. *Fleckenquerschnitt*: Ein Hauptzweck dieser Arbeit war, die Fleckenquerschnitte der untersuchten Substanzen bei den verschiedenen Trennbedingungen zu verfolgen. In einer früheren Arbeit³⁾ wurden auf hitzeaktivierten Schichten Fleckenquerschnitte beobachtet, die auf eine unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit einer Substanz an der Oberfläche der Adsorptionsschicht gegenüber tieferliegenden Schichtlagen schliessen liessen. Die Bestimmung des Fleckenquerschnittes bei 3 mm Schichtdicke zeigte auf hitzeaktivierten Schichten auch in dieser Versuchsreihe Abweichungen im beschriebenen Sinn³⁾. Die untersuchten Farbstoffe, vor allem Sudanrot G und Buttergelb, weisen an der Schichtoberfläche einen um 0,01–0,08 höheren Rf-Wert gegenüber tieferliegenden Schichten auf, und zwar unabhängig von der Trenntemperatur. Bei luftaktivierten und bei desaktivierten Schichten hingegen trat eine derartige Asymmetrie des Fleckenquerschnittes nicht oder nur geringfügig auf. Dieses Phänomen dürfte somit auf eine unterschiedliche Aktivität, d. h. einen unterschiedlichen Wassergehalt, im Schichtquerschnitt zurückzuführen sein: Die Oberfläche dürfte rascher desaktiviert werden, wodurch die Rf-Werte in diesem Bereiche höher sind.

Allgemein wurden (mit dem Testgemisch DESAGA) die besten Resultate bezüglich (maximaler) Trennung und (minimaler) Diffusion auf 72 h luftgetrockneten und auf 48 h luftdesaktivierten Adsorptionsschichten in der K- und der SK-Kammer erzielt. 24 h luftgetrocknete Schichten ergaben z. T. ungleichmässige Wanderungen. Auch in der KN-Kammer wurde auf 72 h luftgetrockneten Schichten eine gute Auftrennung erhalten, während die SN-Kammer keine besonders gute Ergebnisse lieferte. Die Auftrennung bei 4° führte meist zu schmalen Banden. Langfristig luftgetrocknete oder desaktivierte Schichten dürften – speziell bei Kammersättigung – für die präparative Dünnschichtchromatographie besonders gut geeignet sein.

Die Unterstützung dieser Arbeit durch den EMIL-BARELL-FONDS sei auch an dieser Stelle herzlichst verdankt.

Experimentelles. – Die Bereitung der 3 mm dicken Adsorptionsschichten erfolgte mit dem CAMAG-Streichgerät (8 Umdrehungen), wie früher beschrieben³⁾. Das Verhältnis Kieselgel G (MERCK), unter Zusatz von 2% Gips, zu dest. Wasser betrug je nach Charge 1:1,5 bzw. 1:1,57. Die Trocknung der Schichten wurde durch halbstündiges Bestrahlen mit einer Infrarotlampe ergänzt. Die Luftdesaktivierung erfolgte durch Liegenlassen hitzeaktivierter Platten bei Zimmer-

temperatur. Zur Herstellung von Platten kontinuierlich ansteigender Schichtdicke wurde an eine beschichtete (20×20 cm) Platte von 3 mm Dicke mit sauberer unterer Glasseite am oberen und unteren Rand je eine gereinigte Trägerscheibe (20×5 cm) gelegt. Die 3 Platten müssen von möglichst gleicher Dicke sein. Am linken Rand wurde unter die 2 schmalen Trägerscheiben je ein Glasstreifen von 3 mm Dicke (gewünschte Schichtdicke) und 0,5 cm Breite gelegt. Dadurch erhält man eine Gleitschiene (links 3 mm und rechts 0 mm Höhe), mit welcher man mittels eines planen Glasstreifens oder Lineals die Adsorptionsschicht auf eine kontinuierliche Schichtdicke abkratzen kann. Am einfachsten werden die 3 Platten von einer Person festgehalten, während die andere das vorsichtige Abtragen vornimmt. Die Schichtdicke von Platte zu Platte ist nicht genau reproduzierbar. Das Testgemisch DESAGA wurde auf eine Startlinie aufgetragen, deren seitliche Einrückung von der Adsorptionsschicht her 0,5 cm und deren Abstand vom unteren Plattenrand her 1,5 cm betrug. Die von Hand aufpipettierte Substanzmenge betrug 25 mm^3 pro 1,5 cm Startlinie. Als Trennkammern dienten die bereits beschriebenen Systeme²⁾. Jede Wanne wurde mit 120 ml Benzol (*p. a.* MERCK) beschickt. Der Zwischenraum Schicht:Deckplatte im SN-System betrug 1 mm und im SK-System 2 mm. Zur Regulierung des Abstandes verwendeten wir Glasstreifen von 0,5–1 cm Breite und 20 cm Länge. Die Dicke dieser Streifen wurde der Höhe der Adsorptionsschicht angepasst: 1 mm für SN- bzw. 2 mm für SK-System (Schichtdicke 0,25 mm) auf der rechten Seite und 4 mm für SN- bzw. 5 mm für SK-System (Schichtdicke 3 mm) auf der linken Seite. Auch hier wurde darauf geachtet, dass zwischen Adsorptionsschicht und Glasstreifen ein Zwischenraum von mindestens 0,2 cm bestand. Die Laufstrecke betrug 10 cm, bezogen auf die 0,25 mm dicke Seite der Adsorptionsschicht.

Fr. E. Giss danke ich für ihre geschickte experimentelle Mithilfe.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Hinblick auf die präparative Dünnschichtchromatographie wird der Einfluss der Kammersättigung, Trenntemperatur und Aktivität der Adsorptionsschicht bei kontinuierlich ansteigender Dicke (0,25–3 mm) auf die Rf-Werte von Indophenol, Sudanrot G und Buttergelb untersucht. Die Aktivität der Schicht zeigt sich von grösster Bedeutung für das Trennergebnis.

Forschungslaboratorium der Neurologischen Universitätsklinik
Basel, Socinstrasse 55

196. Steroide und Sexualhormone

229. Mitteilung¹⁾

Herstellung von B-Homo-6,10-cyclo-19-nor-androstan-Verbindungen

(Vorläufige Mitteilung)

von J. J. Bonet, H. Wehrli und K. Schaffner

(25. VI. 63)

In einer kürzlich erschienenen Mitteilung¹⁾ beschrieben wir die Überführung des Mesylesters **2** ($X = H_2$) in die 3,17-Dioxo-6 β ,19-cyclo-androstane **3** und **4** (beide $X = H_2$). Im folgenden (vgl. Reaktionsschema) berichten wir nun kurz über die Umwandlung der Verbindungen **3** und **4** in das 3,17-Dioxo- Δ^4 -B-homo-6,10-cyclo-19-nor-androsten **5**.

¹⁾ 228. Mitt.: J. J. BONET, H. WEHRLI & K. SCHAFFNER, *Helv.* **45**, 2615, 2739 (1962).