

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Zusammenfassung der in der Literatur erwähnten Nebenprodukte der Azidkondensation: E. SCHNABEL, *Liebigs Ann. Chem.* **659**, 168 (1962).
- [2] Überblick über die CURTIUS-Umlagerung: P. A. S. SMITH in *Organic Reactions* Bd. *III*, 337, John Wiley & Sons, New York 1946.
- [3] J. W. HINMAN, E. L. CARON & H. N. CHRISTENSEN, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 1620 (1950); M. A. NYMAN & R. M. HERBST, *J. org. Chemistry* **15**, 108 (1950); G. L. TRITSCH & D. W. WOOLLEY, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 2787 (1960).
- [4] K. C. HOOPER, H. N. RYDON, J. A. SCHOFIELD & G. S. HEATON, *J. chem. Soc.* **1956**, 3148; K. HOFMANN, T. A. THOMPSON, H. YAJIMA, E. T. SCHWARTZ & H. INOUE, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 3715 (1960).
- [5] R. SCHWYZER, *Helv.* **44**, 667 (1961).
- [6] R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER, W. RITTEL & H. ZUBER, *Helv.* **41**, 1287 (1958).
- [7] B. RINIKER & R. SCHWYZER, *Helv.* **44**, 658 (1961).
- [8] B. RINIKER & R. SCHWYZER, *Helv.* **47**, 2357 (1964).
- [9] R. SCHWYZER & H. KAPPELER, *Helv.* **44**, 1991 (1961).
- [10] J. KENYON & D. P. YOUNG, *J. chem. Soc.* **1947**, 263.
- [11] H. J. HESS, W. T. MORELAND & G. D. LAUBACH, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 4040 (1963).
- [12] H. SCHWARZ, F. M. BUMPUS & I. H. PAGE, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 5697 (1957).
- [13] W. RITTEL, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER & R. SCHWYZER, *Helv.* **40**, 614 (1957).
- [14] D. H. SPACKMAN, W. H. STEIN & S. MOORE, *Analyt. Chemistry* **30**, 1190 (1958).

260. Die Anwendung von Aktivitätsgradienten in der Dünnschichtchromatographie¹⁾

von C. G. Honegger

(15. X. 64)

Die Anwendung der Gradiententechnik, für verschiedene Trennverfahren sehr nützlich, hat sich in der Dünnschichtchromatographie relativ spät eingebürgert. Einen Konzentrations-Gradienten der mobilen Phase gebrauchte erstmals RYBICKA [1]²⁾ im Jahre 1962 zur Auftrennung von Glyceriden. Die von NIEDERWIESER & BRENNER [2] durch chromatographische Fliessmittelentmischung erreichte polyzonale Dünnschichtchromatographie kann ebenfalls als Gradiententechnik betrachtet werden. Neue Möglichkeiten wurden durch die Einführung von Gradienten innerhalb des Adsorbens eröffnet. BERGER *et al.* [3] verwendeten erstmals *zwei* Adsorbentien auf derselben Platte zur Dünnschichtchromatographie. Erst durch die Entwicklung eines neuen (GM = Gradienten-Misch-) Streichgerätes³⁾ durch STAHL [4] ergibt sich eine fast universelle Anwendung von Adsorbensgradienten (Mischung verschiedener Adsorbentien-, pH- und Imprägnationsgradienten). Eigene Versuche, die Dünnschichtchromatographie zu einer histochemischen Methode zu verwenden [5], machten die Einführung eines Gradienten wünschbar, um damit den Trennungsbereich zu erweitern. Wir unter-

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen am UNILEVER Research Symposium, «Recent Advances in the Chromatography of Lipids», Cambridge, October 1964.

²⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2387.

³⁾ Das GM-Streichgerät wird durch die Firma DESAGA, Heidelberg, in den Handel gebracht.

suchten dazu die Anwendung von Aktivitätsgradienten innerhalb des Adsorbens, über die wir hier kurz berichten möchten.

Method. Die Einführung von Adsorbens-Aktivitätsgradienten erreicht man, indem gewisse Bereiche einer während 20 Min. bei 110° aktivierten Dünnschichtplatte mit bestimmten Mengen destilliertem Wasser desaktiviert werden. Dies geschieht am einfachsten a) durch Aufsprühen von Wasser auf die Adsorptionsschicht oder b) durch Eintauchen der Platte in ein leicht verdampfbares Lösungsmittel, welches einen bestimmten Prozentsatz Wasser enthält.

Die letztere Methode ist vorzuziehen, da sie einfach und reproduzierbar ist. Aceton mit 5–30% Wasser hat sich dazu bewährt. Gradienten an- oder absteigender Aktivität werden durch mehrmaliges Eintauchen einer Dünnschichtplatte in 5-proz., wässriges Aceton erzielt, wobei der Eintauchungspegel – nach dem jeweiligen Verdampfenlassen des Acetons – schrittweise verringert wird. Um reproduzierbare Resultate zu erhalten, muss diese Prozedur zeitlich standardisiert werden. Für das Eintauchen wählten wir ein Zeitintervall von 5 Sek., für das Abdampfenlassen des Acetons ein solches von 6 Min. Der Gradient kann nach Belieben gewählt werden – Zunahme nach oben, unten oder nach der Seite.

Um aus möglichst wenigen Versuchen die idealen Trennbedingungen für ein spezielles Problem zu finden, verwenden wir Aktivitätsgradienten, die schräg zur Laufrichtung liegen. Eine 20 × 20-Trägerplatte wird dazu – von der Laufrichtung aus gesehen – mit der linken, unteren Ecke soweit in das wässrige Aceton eingetaucht, dass der linke und untere Rand jeweils 15 cm weit benetzt wird (Fig. 1 und 2). Dadurch wird ein Aktivierungsgradient erhalten, der nach rechts und oben zunimmt. Wird eine Dünnschichtplatte in der Weise desaktiviert, dass – in Laufrichtung gesehen – die Schichtecke 15 cm seitlich vom linken und vom unteren Rand vom wässrigen Aceton nicht benetzt wird (Fig. 3), so erhält man einen Aktivitätsgradienten, der nach rechts und nach oben abnimmt. Nach 6 Min. werden die Substanzproben auf die Startlinie einer Trägerplatte aufgetragen und möglichst rasch nach den Standardmethoden aufgetrennt.

Ergebnisse und Diskussion. In Figur 1–3 sind Chromatogramme abgebildet, deren Desaktivierungszonen mit 25-proz. wässrigem Aceton auf Kieselgel-G (MERCK) hergestellt wurden. Die Schicht nimmt dabei etwa 37% Wasser auf, was ungefähr $\frac{1}{4}$ der Sättigungsmenge entspricht (143% bei Lauf in H₂O). Es wurden zur Trennung in Heptan (FLUKA) und Tetrachlorkohlenstoff (MERCK), Squalen (FLUKA) (höchster Rf-Wert), Cholesterylstearat (BDH) (mittlerer Rf-Wert) und

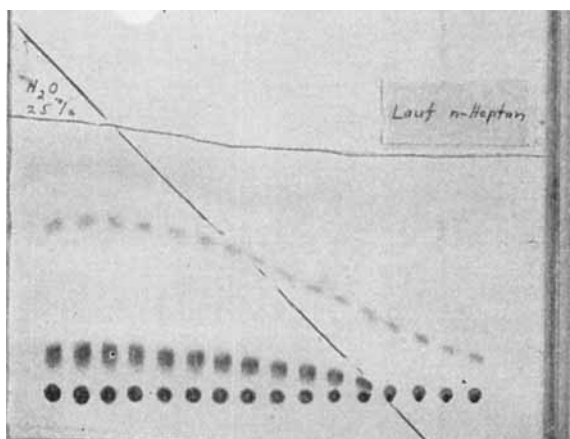


Fig. 1. Trennung von Squalen, Cholesterylstearat und Cholesterin auf Kieselgel-G-Aktivitätsgradient (Schichtdicke 0,25 mm) in Heptan
Laufstrecke: 10 cm, Laufzeit: 12 Min. bei Kammersättigung. Anfärbung mit Phosphormolybdän-säure. Desaktivierung unterhalb Diagonale.

Cholesterin (HOFFMANN-LA ROCHE) (kleinster Rf-Wert) verwendet. In Figur 1 und 2 verläuft die Desaktivierungszone links unter der eingezeichneten Diagonale. Die Trennung in Heptan (Fig. 1) zeigt eine Zunahme der Laufgeschwindigkeit, der Fleckengrösse und der Rf-Werte mit zunehmender Desaktivierung. Dabei nimmt der Trennbereich zwischen Squalen und Cholesterylstearat mit der Desaktivierung zu. Aus der Auftrennung in Tetrachlorkohlenstoff unter sonst gleichen Bedingungen (Fig. 2) beobachtet man mit zunehmender Desaktivierung eine Verbreiterung des Trennbereiches zwischen Cholesterylstearat und Cholesterin bei gleichzeitiger Verringerung im Bereich Cholesterylstearat/Squalen. Bemerkenswert ist, dass Chole-

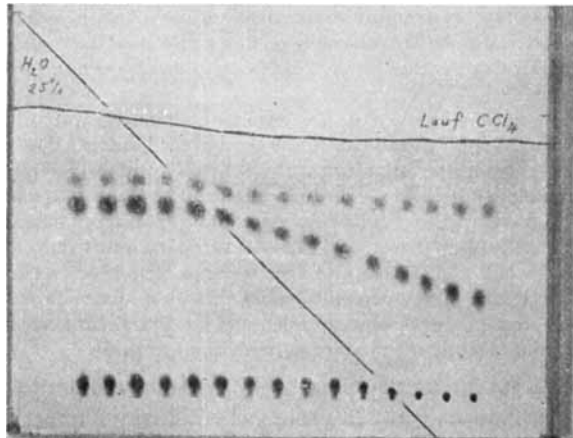


Fig. 2. Trennung von Squalen, Cholesterylstearat und Cholesterin auf Kieselgel-G-Aktivitätsgradient (Schichtdicke 0,25 mm) in Tetrachlorkohlenstoff
 Laufstrecke: 10 cm, Laufzeit: 22 Min. bei Kammersättigung. Anfärbung mit Phosphormolybdän-säure. Desaktivierung unterhalb Diagonale.

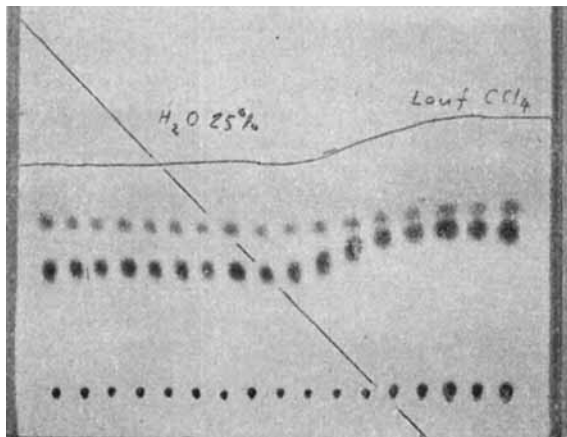


Fig. 3. Trennung von Squalen, Cholesterylstearat und Cholesterin auf Kieselgel-G-Aktivitätsgradient (Schichtdicke 0,25 mm) in Tetrachlorkohlenstoff
 Laufstrecke: 10 cm, Laufzeit: 20 Min. bei Kammersättigung. Anfärbung mit Phosphormolybdän-säure. Desaktivierung oberhalb Diagonale.

sterin in diesem Laufmittel zur Wanderung gebracht werden kann, wenn eine entsprechende Desaktivierung des Adsorbens erfolgte. In Figur 3 liegt die Desaktivierungszone rechts oberhalb der eingezeichneten Diagonale. Unter sonst gleichen Bedingungen wie in Figur 2 ist eine grössere Laufgeschwindigkeit in desaktiviertem Teil und eine unterschiedliche Beeinflussung der Substanzen mit höherem Rf-Wert zu beobachten: Die Einführung von abnehmenden Aktivitätsgradienten im oberen Teil des Trennbereiches ergibt somit eine zusätzliche Trennmöglichkeit.

Die Ergebnisse demonstrieren, dass man mit Hilfe von Aktivitätsgradienten Trennbedingungen erzielt, die einem speziellen Trennproblem angepasst werden können. An Stelle von Wasser kann man auf diese Art auch andere Stoffe auf die Schicht bringen. Ausser der Möglichkeit, durch geeignete Wahl der Aktivität einer Adsorptionsschicht zu einer Erhöhung der Reproduzierbarkeit zu gelangen, sehen wir noch folgende spezielle Anwendungsmöglichkeit: Überall dort, wo einem relativ unpolaren Lösungsmittelsystem mehr Wasser zugesetzt werden sollte als es die Löslichkeitsverhältnisse, ohne Auftreten einer Entmischung, erlauben und ein Lösungsvermittler unerwünscht ist, kann dieser Anteil Wasser direkt auf die Adsorptionsschicht gebracht werden.

Frau M. EDER und Fräulein U. VÖGELI danke ich für ihre geschickte experimentelle Mithilfe.

SUMMARY

A simple method for preparation and use of adsorption activity gradients in thin layer chromatography is described. The results obtained are discussed in the light of further applications of this technique.

Neurologische Universitätsklinik Basel, Forschungslaboratorium

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. M. RYBICKA, Chem. & Industry 1962, 308.
- [2] A. NIEDERWIESER & M. BRENNER, Experientia, im Druck.
- [3] J. A. BERGER, G. MEYNIEL, P. BLANQUET & JACQUELINE PETIT, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. 257, 1534 (1963).
- [4] E. STAHL, Chem.-Ing. Technik 36, 941 (1964).
- [5] C. G. HONEGGER, Helv. physiol. pharmacol. Acta, im Druck.

261. Recherches sur l'ozonation de l'oléate d'éthyle suivie par spectrographie d'absorption IR.

par E. Briner, S. Fliszár et G. P. Rossetti

(15 X 64)

Introduction. Dans un mémoire relativement ancien [1]¹⁾, on a suivi spectrographiquement en absorption IR. l'ozonation de l'acide oléique et de l'oléate d'éthyle.

Dans cette dernière ozonation, aucun élargissement appréciable ne s'est manifesté dans la bande carbonyle de l'ester à 1737 cm⁻¹, même aux degrés d'ozonation

¹⁾ Les chiffres entre crochets renvoient à la bibliographie, p. 2390.