

EINE SYSTEMATISCHE ANALYSE VON ALKALOIDEN AUF DÜNNSCHICHTPLATTEN

D. WALDI, K. SCHNACKERZ UND F. MUNTER

Kontroll-Laboratorium der E. Merck AG, Darmstadt
(Deutschland)*

(Eingegangen den 27. Oktober 1960)

In einer früheren Arbeit¹ haben wir die Alkaloide auf Grund ihres polaren Verhaltens in einem System: Formamid/Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin, papierchromatographisch in 4 verschiedene Gruppen einteilen können. Nach Ermittlung der Gruppenzugehörigkeit in einem kurzen Vorversuch konnten dann die einzelnen Alkaloide durch ihr unterschiedliches Verhalten in Fließmitteln wechselnder Zusammensetzung identifiziert werden.

In der vorliegenden Arbeit werden die Alkaloide in analoger Weise nach ihrem Verhalten auf Dünnschichtplatten in zwei Gruppen unterteilt. Aus der Lage der gefundenen Flecke und unter eventueller Zuhilfenahme weiterer angegebener Lösungsmittelkombinationen lassen sich die Alkaloide identifizieren. Es wird ferner das Verhalten der Alkaloide auf verschiedenen Trägerschichten (Kieselgel sauer, Aluminiumoxyd basisch) besprochen.

Die neue Dünnschichtchromatographie nach STAHL²⁻⁷ ist besonders gut zur Entwicklung jener Verbindungen geeignet, die bisher papierchromatographisch auf üblicher Weise formamidimprägnierten Filtrierpapieren getrennt wurden. So konnten von uns bereits verschiedene Steroide⁸ vorteilhaft auf Dünnschichtplatten chromatographiert werden.

Die Bedeutung der Dünnschichtchromatographie** ist unverkennbar durch ihre Vorzüge gegenüber der Papierchromatographie gegeben. Diese sind unter anderen: die kurze Entwicklungszeit (etwa 20-40 Minuten), die gute Anfärbbarkeit und Sichtbarmachung auf einem anorganischen Träger (die Empfindlichkeit der Anfärbung ist meist eine oder zwei Zehnerpotenzen grösser als auf Papier) und die runden, sauberen Fleckenformen.

Eine Trennung mehr oder weniger hydrophober Verbindungen auf aktivierten Platten geht mit vorwiegend hydrophoben Lösungsmitteln (in der Hecker'schen Reihe von Chloroform bis zu den Kohlenwasserstoffen) adsorptionschromatographisch vor sich. Es ist möglich, beim Übergang zu hydrophileren Verbindungen auf Platten in analoger Weise wie auf dem Filtrierpapier eine Trennung durch Verteilung

* Leiter: Prof. Dr. K. KREBS.

** Prospekt: Aluminiumoxyd G, Kieselgel G, Kieselgur G für die Dünnschichtchromatographie kann bei der Fa. E. Merck AG, Darmstadt, angefordert werden.

zu erreichen, wobei dann eine oder mehrere stark wasserlösliche Komponenten am Aufbau des Fließmittels beteiligt sind. Diese setzen dann allerdings die Aktivität der Platten herab, weil sie an die Adsorptionszentren gebunden werden.

Das der Grundausrüstung* für die Dünnschichtchromatographie beiliegende Testgemisch, gibt ein Mass für die relative Aktivität des Trägermaterials. Wie aus Fig. 1 ersichtlich, hat Kieselgel G die grösste Aktivität, dann folgen Aluminiumoxyd G und schliesslich die praktisch inaktive Kieselgur G. Auf allen drei Platten wurde das Testgemisch mit Benzol entwickelt. Je grösser die Aktivität ist, um so kleiner sind die R_F -Werte.

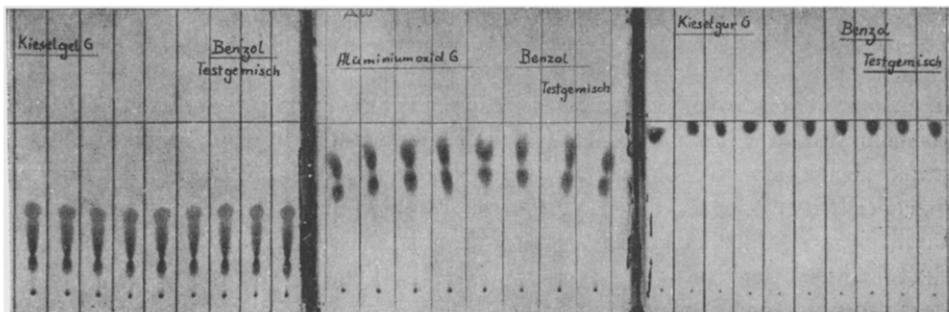


Fig. 1. Verhalten von drei Farbstoffen (Testgemisch) auf verschiedenen Schichten mit Benzol. Kieselgel G, Aluminiumoxyd G und Kieselgur G.

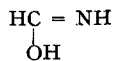
Mit der Aktivität parallel geht die Kapazität des Trägers, die sich auf die maximale Auftragsmenge bezieht, welche noch ohne Schwanzbildung (tailing) zu entwickeln ist. Auf Kieselgelplatten betragen diese Substanzmengen bis zu einigen Milligramm, auf Aluminiumoxyd bis zu wenigen Zehntelmilligramm und auf inaktiven Kieselgurplatten im allgemeinen nur 25–50 μg .

Bei der Entwicklung von Verbindungen, die saure oder basische Gruppen enthalten, müssen entsprechende Trägereigenschaften ebenfalls berücksichtigt werden. So reagieren die Kieselgel G-Platten stark sauer, und Basen werden mit neutralen Lösungsmitteln am Startpunkt festgehalten. Aluminiumoxyd G-Platten reagieren basisch und binden saure Komponenten, Kieselgur G-Platten verhalten sich neutral.

Es ist interessant, dass sich das mit Formamid imprägnierte Filtrierpapier Basen gegenüber ähnlich wie Kieselgel G-Platten verhält. Mit neutralen Lösungsmitteln, z.B. Chloroform, verbleiben Basen bei der Entwicklung auf dem Startpunkt.**

* Zu beziehen bei Desaga GmbH, Heidelberg, Hauptstr. 60.

** Wir nehmen an, dass Formamid – das an das Papier gebunden ist – Basen gegenüber in der sauren Enolform reagiert:



Formamid für die Chromatographie Merck zeigt mit der Messelektrode schwach basische Reaktion (pH 7.5–8.5). Verschiedentlich wurde beobachtet, dass Formamid anderer Provenienzen mit schwach saurem Verhalten zur Entwicklung der Alkaloide nach unserem Schema¹ praktisch unbrauchbar ist, da die R_F -Werte viel zu tief liegen. Ein Zusatz von Ammoniumformiat half meist auch nicht^{9–11}.

Die als freie Basen vorliegenden Alkaloide können mit einfachen Lösungsmitteln, z.B. Chloroform, auf basischen Aluminiumoxyd G-Platten ohne weiteres adsorptionschromatographisch entwickelt und teilweise auch getrennt werden, wie Fig. 2(a) zeigt. Da die Basenkapazität solcher Platten verhältnismässig gering ist, tritt bei etwas höheren Auftragsmengen (über 50 μg) teilweise Schwanzbildung ein. Durch den geringfügigen Zusatz einer starken, flüchtigen Base zum Elutionsmittel ist es möglich, die Auftragsmengen auf diesen Platten zu erhöhen. Allerdings wird bei Zugabe von nur 0.05% Diäthylamin (3 Tropfen) die Aktivität der Aluminiumoxydplatte herabgesetzt, was durch Einsetzen eines weiteren, hydrophoberen Lösungs-

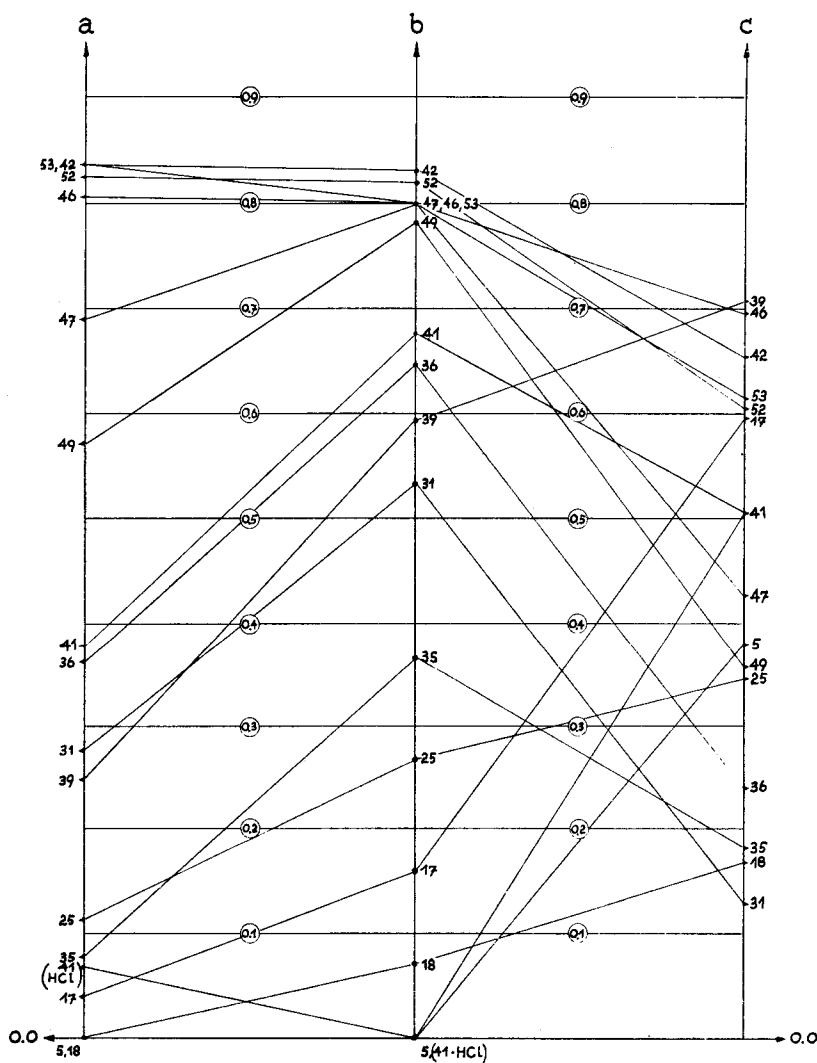


Fig. 2. Die den Zahlen entsprechenden Alkaloide gehen aus Tabelle I hervor. a = Aluminiumoxyd G-Platte mit Chloroform; b = Aluminiumoxyd G-Platte mit Cyclohexan-Chloroform (3:7) 0.05% Diäthylaminzusatz; und c = Kieselgelplatte, mit $N/10$ Natronlauge hergestellt und mit Methanol entwickelt.

mittels (Cyclohexan) ausgeglichen wird (Fig. 2 (b)). Dieser geringfügige Zusatz von Diäthylamin reicht allerdings nicht aus, um die Basen vollständig aus ihren Salzen frei zu machen. So verbleibt beispielsweise Emetinhydrochlorid (Nr. 41 HCl der Fig. 2 (a und b)) praktisch am Startpunkt, und nur ein kleiner Anteil wird während der Entwicklung als Base frei, so dass ein gezogener Fleck entsteht. Im allgemeinen sind die R_F -Werte der Basen auf Aluminiumoxydplatten nicht so gut reproduzierbar wie auf Kieselgelplatten.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, mehr oder weniger stark basische Alkaloide auch auf Kieselgel G-Platten zur Entwicklung zu bringen. Die sauren Gruppen des Kieselgels müssen zuvor gebunden werden. STAHL⁵ hat die schwach basischen Mutterkornalkaloide auf den sauren Kieselgelplatten durch Verteilung mit Chloroform-Methanol trennen können. In der gleichen Arbeit berichtet dieser Autor über die Anfertigung basischer Kieselgelschichten. Zum Herstellen solcher Platten wird Kieselgel G anstelle von Wasser mit $N/10$ Natronlauge angerührt. Auf diesen Platten lassen sich die Alkaloide mit Methanol entwickeln. Die als Salze aufgetragenen Alkaloide werden restlos in die Basen übergeführt und ergeben meist schöne, runde Fleckenformen. Die Umkehr verschiedener R_F -Werte einzelner Alkaloide (vergleiche z.B. Brucin Nr. 31 und Morphin Nr. 5 der Fig. 2 (b und c)) lässt auf einen ähnlichen Trennungsvorgang schliessen, wie es bei der Entwicklung von Basen oder Säuren (Phenole) mit Elektrolytlösungen auf Filtrierpapier bereits vorgenommen wurde^{12,13}.

Auf den oben beschriebenen alkalischen Platten (Fig. 2 (a-c)) lassen sich sämtliche Alkaloide mit einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch jeweils auf *einer* Platte entwickeln (siehe hierzu auch Tabelle I, Entwickler a-c).

Um auf den üblichen sauren Kieselgelplatten Alkaloide in analoger Weise wie auf formamidimprägniertem Papier entwickeln zu können, wird der Steiglösung eine stärkere Base zugesetzt. Wir fanden auch hier den Zusatz von 10 % Diäthylamin recht vorteilhaft.

Über das Verhalten der Alkaloide auf Kieselgelplatten mit den Entwicklern:

1. Chloroform-Aceton-Diäthylamin (5:4:1)
2. Chloroform-Diäthylamin (9:1)
3. Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5:4:1)
4. Cyclohexan-Diäthylamin (9:1)

vermittelt Fig. 3 einen Überblick. Von Entwickler 2 nach 4 ist ein mehr oder weniger grosser Abfall der R_F -Werte sämtlicher Alkaloide festzustellen.

Wie bereits oben erwähnt, ist bei Entwickler 2 eine Grenze von Adsorption und Verteilung erreicht. Die meisten Alkaloide zeigen bezüglich ihres R_F -Wertes von 2 nach 1 fallende Tendenz, während die Mutterkornalkaloide (auch Yohimbin Nr. 30) noch steigende R_F -Werte aufweisen.

Auf den Kieselgelplatten lassen sich die 54 untersuchten Alkaloide weiter auseinanderziehen als auf basischen Schichten. So wird die erste Gruppe (1-37) nur mit Entwickler 2, die zweite Gruppe (38-54) im wesentlichen mit Entwickler 3 chromatographiert.

Wie aus Tabelle I ersichtlich, trennen sich die Alkaloide 1-37 in Entwickler 2,

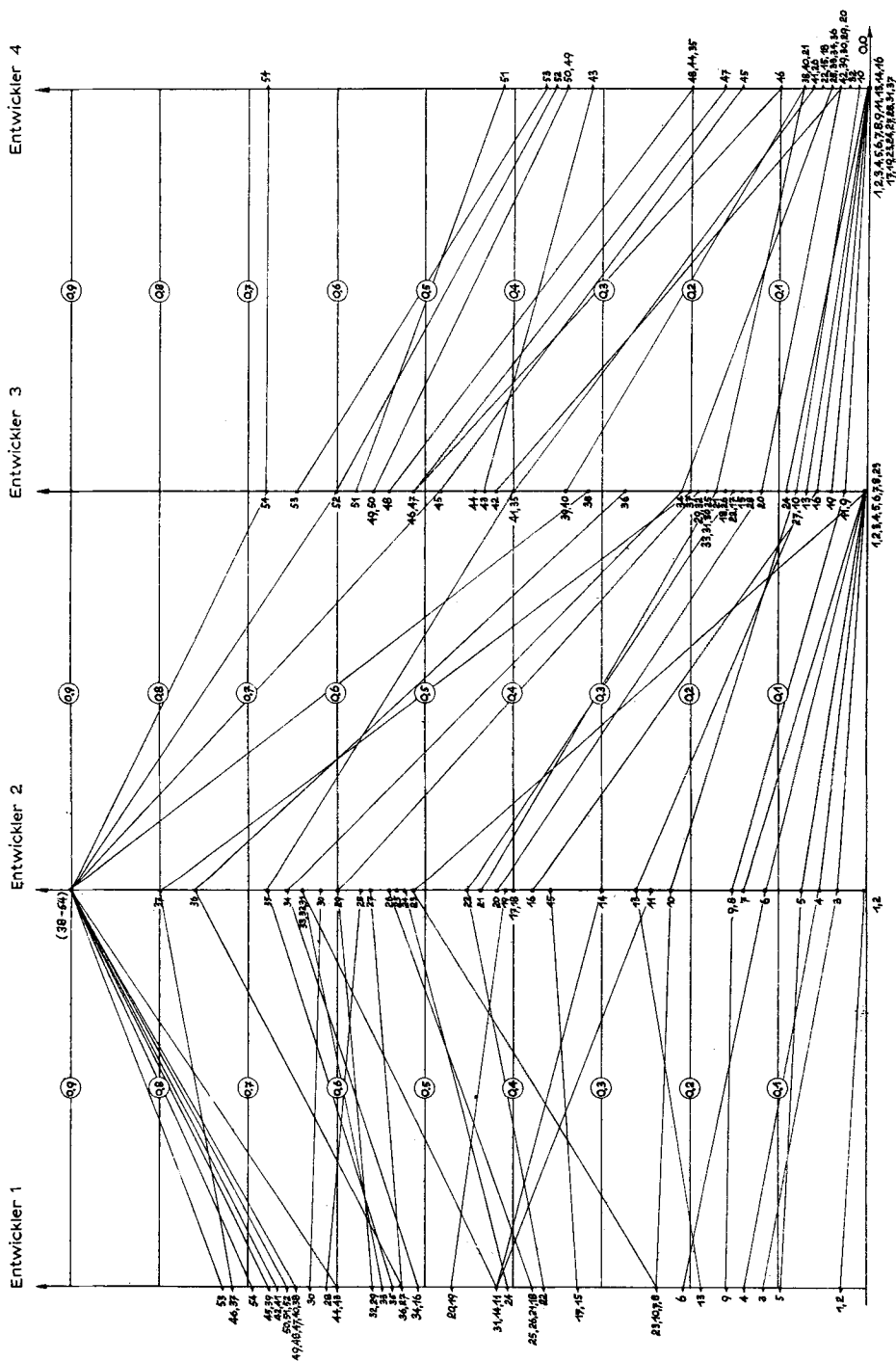


Fig. 3. Kieselgel G-Platten mit: E-1 = Chloroform-Aceton-Diäthylamin (5:4:1); E-2 = Chloroform-Diäthylamin (9:1); E-3 = Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5:4:1); E-4 = Cyclohexan-Diäthylamin (9:1) entwickelt. Die den Zahlen entsprechenden Alkaloide sind der Tabelle I zu entnehmen.

TABELLE

		Gruppe I							
Nr.	Alkaloid	R _F -Werte in					a	b	c
		E-1	E-2	E-3	E-4	E-5			
1	Narcein	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	Cuprein	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46
3	Sarpagin	0.12	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	Ergometrin	0.14	0.06	0.00	0.00	0.02	0.03	0.00	0.64
5	Morphin	0.10	0.08	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00	0.34
6	Dihydroergotamin	0.21	0.12	0.00	0.00	0.03	0.07	0.00	0.61
7	Serpentin	0.24	0.15	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
8	Ergotamin	0.24	0.16	0.00	0.00	0.03	0.10	0.05	0.59
9	Boldin	0.16	0.16	0.03	0.00	0.05	0.24	0.06	0.58
10	Dihydromorphinon	0.24	0.23	0.08	0.01	0.11	0.05	0.08	0.16
11	Ergometrinin	0.42	0.25	0.03	0.00	0.08	0.12	0.10	0.62
12	Ephedrin	—	—	—	—	—	—	—	—
13	Chinin	0.19	0.26	0.07	0.00	0.17	0.09	0.18	0.43
14	Dihydroergocristin	0.42	0.30	0.03	0.00	0.07	0.15	0.07	0.69
15	Hordenin	0.33	0.36	0.14	0.05	0.28	0.00	0.15	0.35
16	Ergocristin	0.51	0.38	0.14	0.05	0.13	0.46	0.15	0.70
17	Chinidin	0.33	0.40	0.15	0.00	0.25	0.12	0.18	0.50
18	Atropin	0.38	0.40	0.16	0.05	0.12	0.00	0.10	0.17
19	Colchicin	0.47	0.41	0.04	0.00	0.04	0.11	0.00	0.57
20	Ajmalin	0.47	0.42	0.12	0.03	0.30	0.06	0.13	0.56
21	Cinchonin	0.38	0.44	0.17	0.07	0.27	0.00	0.22	0.40
22	Homatropin	0.37	0.45	0.15	0.05	0.23	0.04	0.24	0.15
23	Ergotaminin	0.24	0.51	0.00	0.00	0.14	0.42	0.15	0.68
24	Pilocarpin	0.41	0.52	0.09	0.00	0.13	0.32	0.25	0.55
25	Codein	0.38	0.53	0.16	0.04	0.26	0.12	0.27	0.35
26	Dihydrocodein	0.38	0.54	0.18	0.06	0.28	0.10	0.30	0.25
27	Serpentinin	0.53	0.56	0.08	0.00	0.10	0.00	0.03	0.12
28	Ergocristinin	0.61	0.57	0.13	0.00	0.20	0.00	0.27	0.70
29	Scopolamin	0.56	0.60	0.19	0.03	0.34	0.30	0.00	0.52
30	Yohimbin	0.63	0.62	0.18	0.03	0.37	0.33	0.15	0.60
31	Brucin	0.42	0.63	0.18	0.00	0.19	0.50	0.54	0.12
32	Cephaelin	0.56	0.63	0.19	0.02	0.23	0.25	0.17	0.37
33	Rauwolscin	0.55	0.63	0.18	0.04	0.36	0.36	0.15	0.68
34	Dihydrocodeinon	0.51	0.65	0.21	0.04	0.30	0.48	0.43	0.18
35	Apoatropin	0.54	0.67	0.40	0.20	0.26	0.15	0.40	0.16
36	Strychnin	0.53	0.76	0.28	0.05	0.38	0.57	0.60	0.22
37	Reserpin	0.72	0.80	0.20	0.00	0.46	0.63	0.35	0.69

I

<i>Gruppe I</i>				
<i>Fluoreszenzfarbe im U.V. (365 mμ)</i>	<i>Farbe nach Besprühen mit Jodplattat Rg.</i>	<i>Gefundene Fleckenform</i>	<i>Zahl der Nebenflecke</i>	<i>Zahlenfolge mit PC</i>
—	tiefblau	rund	—	2
bräunlich-gelb	rotbraun	rund	—	5
—	beige	rund	—	1
violettblau	weiss (rosa Untergr.)	rund	—	3
—	tiefblau	rund	—	4
violettblau	bräunlich	rund	—	13
dunkelbraun	rotbraun	rund	—	7
violettblau	rosa	rund	—	14
violett	beige	rund	—	9
—	bräunlich-gelb	rund	—	8
violettblau	violettblau	rund	—	11
—	hellbraun	gezogen!!!	—	43
blau	gelbweiss	rund	—	41
violettblau	bräunlich	rund	—	18
—	weiss (rosa Untergr.)	rund	—	36
violettblau	beige-hellbraun	rund	—	16
blau	hellgelb	rund	1	44
—	violettblau	rund	—	37
—	hellgrau	rund	—	12
bläulich	beige	rund	2	33
—	beige-braun	rund	—	45
—	violettblau	rund	—	35
violettblau	rosa	rund	—	15
—	hellbraun	rund	—	6
—	ericafarben	rund	—	30
blau	violettblau	rund	—	32
gelbgrün	gelbbraun	gezogen	—	19
violettblau	hellbraun	rund	—	17
—	violett	rund	—	28
grünblau	hellgelb	rund	3	31
—	violettbraun	rund	1	20
violettblau	weiss (rosa Untergr.)	rund	3	22
gelbgrün	schwach beige	rund	1	42
—	violett	rund	2	25
—	violettblau	rund	—	52
—	gelb	gezogen	—	24
grüngelb	weiss (rosa Untergr.)	rund	3	34

(Fortsetzung auf Seite 68)

TABELLE I

		Gruppe II								
Nr.	Alkaloid	R_F -Werte in								
		E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	a	b	c	
38	Physostigmin	0.65	> 0.9	0.32	0.04	0.44	0.59	0.50	0.46	
39	Aconitin	0.68	> 0.9	0.35	0.03	0.49	0.36	0.60	0.65	
40	Bulbocapnin	0.65	> 0.9	0.35	0.07	0.54	0.78	0.70	0.48	
41	Emetin	0.67	> 0.9	0.40	0.06	0.45	0.38	0.58	0.50	
42	Papaverin	0.67	> 0.9	0.42	0.03	0.47	0.85	0.84	0.70	
43	Cotarnin	0.60	> 0.9	0.43	0.31	0.45	0.00	0.25	0.00	
44	Scopolin	0.60	> 0.9	0.44	0.20	0.44	0.46	0.50	0.37	
45	Lobelin	0.68	> 0.9	0.48	0.14	0.48	0.55	0.60	0.55	
46	Narcotin	0.72	> 0.9	0.51	0.10	0.57	0.81	0.79	0.72	
47	Thebain	0.65	> 0.9	0.51	0.16	0.50	0.71	0.76	0.40	
48	Aspidospermin	0.65	> 0.9	0.54	0.20	0.49	0.50	0.60	0.65	
49	Tropacocain	0.65	> 0.9	0.56	0.34	0.45	0.58	0.78	0.35	
50	Arecolin	0.66	> 0.9	0.56	0.34	0.48	0.00	0.00	0.00	
51	Hydrastinin	0.66	> 0.9	0.58	0.41	0.50	0.00	0.25	0.00	
52	Psicain neu	0.66	> 0.9	0.60	0.35	0.53	0.83	0.82	0.59	
53	Cocain	0.73	> 0.9	0.65	0.36	0.58	0.84	0.77	0.62	
54	Sparteïn	0.70	> 0.9	0.68	0.68	0.55	0.00	0.55	0.05	

Die E-Systeme beziehen sich auf Kieselgelplatten nach STAHL, während a, b und c entsprechend der Fig. 2 auf alkalischen Schichten auszuführen ist, und zwar a und b auf Aluminiumoxyd, c auf N/10 NaOH-vorbehandelten Kieselgelplatten. Die Eluentien (Entwickler) mit entsprechendem Mittelwert des Farbvergleichs sind:

Bezeichnung	Entwickler	Farbvergleich
E-1	Chloroform-Aceton-Diäthylamin (5:4:1)	Rhodamin B R_F 0.58
E-2	Chloroform-Diäthylamin (9:1)	Rhodamin B R_F 0.49
E-3	Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5:4:1)	Rhodamin B R_F 0.20
E-4	Cyclohexan-Diäthylamin (9:1)	Buttergelb R_F 0.45
E-5	Benzol-Äthylacetat-Diäthylamin (7:2:1)	Buttergelb R_F 0.44
a	Chloroform	Buttergelb R_F 0.85
b	Cyclohexan-Chloroform (3:7) + 0.05% Diäthylamin (3 Tropfen)	Buttergelb R_F 0.85
c	Methanol	Rhodamin B R_F 0.53

Die Zahlenfolge bezieht sich von 1-37 auf E-2, von 38-54 auf E-3.
PC = Papierchromatographie.

während die übrigen mit einem R_F -Wert über 0.9 wandern. Die Alkaloide 38-54 entwickeln sich in Entwickler 3 (E-3) über R_F 0.3, während sich die der ersten Gruppe im unteren Bereich befinden. Die R_F -Werte der Tabelle I sind auf einen mitgewanderten Farbstoff korrigierte Mittelwerte aus mehreren Bestimmungen. Die Zahlenfolge der Alkaloide in den Entwicklern 2 und 3 wurde zusätzlich auf den Platten überprüft. Die

(Fortsetzung)

<i>Gruppe II</i>				
<i>Fluoreszenzfarbe im U.V. (365 mμ)</i>	<i>Farbe nach Besprühen mit Jodplateat Rg.</i>	<i>Gefundene Fleckenform</i>	<i>Zahl der Nebenflecke</i>	<i>Zahlenfolge mit PC</i>
—	rosa	rund	1	23
—	rotbraun	rund	3	46
blau	weiss (rosa Untergr.)	rund	—	29
blau	rotbraun	rund	3	39
gelblich	gelb	rund	—	26
grüngelb	violett	gezogen	1	21
—	weiss (rosa Untergr.)	rund	—	27
—	rotbraun	rund	—	47
blau	hellgelb	rund	—	40
—	rotbraun	rund	—	38
—	weiss (rosa Untergr.)	rund	—	49
—	violett	rund	—	50
—	weiss (rosa Untergr.)	rund	—	—
stahlblau	violettblau	gezogen	1	10
—	gelb	rund	—	51
—	violett	rund	—	48
—	violett	rund	—	54

Entwickler 1, 4 und 5 dienen zur weiteren Differenzierung besonders der nahe beieinanderliegenden Alkaloide, die mit den untersuchten Eluenten andere Löslicheitseigenschaften aufweisen und deshalb oft die Reihenfolge wechseln.

Die nach der Entwicklung erhaltenen Flecke sind meist rund. Einige Alkaloide zeigen Nebenflecke, die in einer besonderen Rubrik der Tabelle I aufgeführt sind. Ephedrin (Nr. 12) lässt sich auf Filtrierpapier einwandfrei entwickeln. Auf Platten stellen wir bei diesem Alkaloid meist gezogene Flecken fest, was auf Zersetzung deutet. Auch mit Aceton-Methanol-Eisessig (5:4:1) sind auf Kieselgelplatten noch gezogene Flecke feststellbar. Der R_F -Wert des Ephedrins lässt sich mit 0.32, bezogen auf Rhodamin B (R_F 0.62), ermitteln. Die Sichtbarmachung erfolgt mit Cersulfat-Reagenz nach Sonnenschein.

DIE AUSFÜHRUNG EINER ALKALOIDANALYSE AUF KIESELGELPLATTEN

Mit Hilfe von Tabelle I bzw. Fig. 3 ist es möglich, eine praktische Alkaloidanalyse durchzuführen. Wir verweisen auf den experimentellen Teil am Schluss dieser Arbeit.

Die zu untersuchenden Alkaloide sollen gelöst in einem Konzentrationsbereich von etwa 0.05–5 % vorliegen. Salze der Alkaloide werden zu Beginn der Entwicklung durch den Diäthylaminzusatz in die Basen überführt. Mit der ersten Kieselgelplatte werden die günstigste Auftragekonzentration und die Gruppenzugehörigkeit des gesuchten Alkaloids ermittelt.

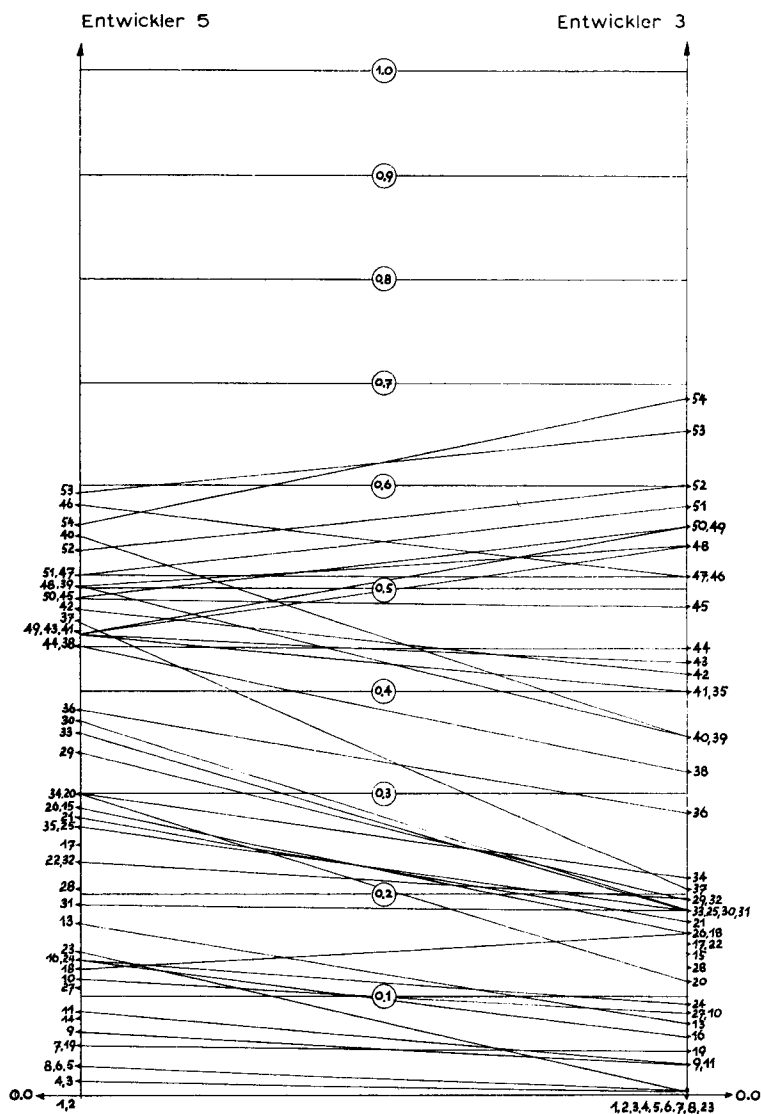


Fig. 4. Kieselgel G-Platten mit: E-3 = Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5:4:1) und E-5 = Benzol-Äthylacetat-Diäthylamin (7:2:1). Die den Zahlen entsprechenden Alkaloide sind aus Tabelle I ersichtlich.

Auf die laufenden Startpunkte einer Kieselgelplatte werden daher $1 \times 5 \text{ mm}^3$ bis $10 \times 5 \text{ mm}^3$ der Analysenlösung aufgetropft und zusätzlich $1 \times 5 \text{ mm}^3$ der Rhodamin B-Lösung als Vergleich auf einen Startpunkt aufgebracht. Die Platte wird in Entwickler 3 eingestellt und nach den Angaben im experimentellen Teil sichtbar gemacht.

Alkaloide mit R_F -Werten über 0.3

Diese Alkaloide gehören zur Gruppe II. Aus dem auf Rhodamin B (R_F -Wert = 0.20) korrigierten R_F -Wert und auf Grund der Anfärbung mit Jodplateat-Reagenz hat man

bereits Anhaltspunkte für die Identität des gesuchten Alkaloids. Die weitere Identifizierung erfolgt auf Kieselgelplatten mit der günstigsten Auftragsmenge (um 50 μg) in den Entwicklern 4 und 5.

Die mutmasslichen Alkaloide trägt man ebenfalls auf einzelne Startpunkte getrennt und auch zusammen mit der Analysenlösung auf. Nach der Entwicklung kann man einzelne Felder mit Glasplatten der Grösse 20 \times 10 cm abdecken. Diese können dann mit weiteren Sprühreagenzien, die auf spezifische Gruppen reagieren, besprüht werden.

Alkaloide, die in Entwickler 3 unterhalb R_F -Werten von 0.3 liegen

Diese gehören zur Gruppe I. Zunächst wird eine Kieselgelplatte mit günstigen Auftragsmengen in E-2 entwickelt und die R_F -Werte (auf Rhodamin B = R_F 0.49) bestimmt. Auch hier deckt man einige Felder mit Glasplatten ab, um später spezifische Anfärbeaktionen durchführen zu können. Schliesslich werden zwei weitere Kieselgelplatten mit den mutmasslichen Alkaloiden allein und mit Analysenlösung auf den Startpunkten in die Entwickler 1 und 2 gebracht. In Zweifelsfällen können auch basische Platten nach Fig. 2 (a-c) zu Rate gezogen werden.

Mit reinen Alkaloidlösungen ist die Analyse ohne weiteres durchführbar. Bei der praktischen Analyse wird man damit rechnen müssen, dass bereits Zersetzungsprodukte oder auch andere mit Jodplatt reagierende Stoffe in der Analysenlösung vorhanden sind, die Schwierigkeiten bereiten. Wegen der Begleitstoffe, die die R_F -Werte verändern können (Verdrängung) wird es nützlich sein, den einen oder den anderen Startpunkt mit einem Alkaloid an der Grenze der Gruppen, z.B. Nr. 36 oder Nr. 38, zu versehen. Schliesslich ist zu bemerken, dass Tabelle I noch durch die fehlenden Alkaloide ergänzt werden kann. In gleicher Weise wie Alkaloide lassen sich auch andere Stoffgruppen auf Platten systematisch darstellen.

EXPERIMENTELLER TEIL

Zur Ausführung unserer Versuche diente die Grundausrüstung nach STAHL*. Die Schichten auf 20 \times 20 cm Glasplatten wurden nach Angaben den der Grundausrüstung beigefügten Vorschriften gestrichen und anschliessend aktiviert.

Die uns zur Verfügung stehenden reinen Alkaloide lösten wir 1 %ig in Äthylalkohol. Mit einer Glaskapillare, \varnothing 1 mm, wurden jeweils 2 \times 2.5 mm³ Lösung, entsprechend 50 μg Substanz, auf die Startpunkte aufgebracht. Auf einem oder mehreren Startpunkten wurde jeweils zusätzlich der in Tabelle I angegebene Vergleichsfarbstoff mitaufgetragen. Es handelte sich dabei um eine 0.5 %ige Lösung von Rhodamin B oder Dimethylaminoazobenzol (Buttergelb). Die Startpunkte waren 15 mm vom unteren Plattenrand entfernt, und die Frontlinie wurde in 100 mm Abstand von den Startpunkten mit Bleistift eingraviert (siehe Fig. 1).

Der zur Entwicklung benötigte Tank wurde mit 100 ml Lösungsmittelgemisch gefüllt. Als Lösungsmittel verwendeten wir die Sorten „für Chromatographie“ Merck.

* Zu beziehen bei Fa. Desaga GmbH, Heidelberg, Hauptstr. 60.

Auf die genaue Zusammensetzung des Entwicklers war ganz besonders zu achten. Jeder angegebene Volumenteil der Lösungsmittel wurde für sich abgemessen. So wurde der Diäthylaminanteil jeweils abpipettiert, und die anderen Lösungsmittelpartner jeder für sich im Messzylinder abgemessen. Die Entwickler mussten nach 3–4-fachem Gebrauch täglich erneuert werden, da der flüchtige Anteil abdampfte. Vor dem Einstellen der Platten schüttelten wir das Gemisch bei aufgesetztem Schliffdeckel kräftig durch; auch das zusätzliche Einlegen eines Papierstreifens erwies sich für eine gleichmässige Lösungsmittelfront als günstig. Nach Einstellen der Dünnschichtplatten in das Gefäss stieg der Entwickler innerhalb von 20–40 Minuten bis zur eingravierten Höhe. Nach Entnahme der Platten verdunsteten die Eluentien ziemlich rasch an der Luft, so dass sie gleich mit filtriertem U.V.-Licht betrachtet und dann angesprüht werden konnten.

Als Anfärbereagenz verwendeten wir modifiziertes Jodplateat-Reagenz, bestehend aus einem Gemisch gleicher Volumenteile einer 0.3%igen wässrigen Platinchloridchlorwasserstofflösung und einer 6%igen wässrigen Kaliumjodidlösung. Es wurde intensiv gesprüht, so dass die Plattenschicht ganz durchfeuchtet wurde (Tropfenbildung vermeiden).

Das Sprühreagenz gab für die meisten Alkaloide eine genügende Differenzierung, da teilweise nicht nur Farbunterschiede, sondern auch Farbänderungen während und nach dem Besprühen wahrgenommen werden konnten. Einige wenige Alkaloide traten erst nach einigen Minuten in Erscheinung, wenn das Reagenz abtrocknete. Die Färbungen der Alkaloide mit Jodplateatreagenz waren auch von der Konzentration des aufgebrachtten Alkaloids abhängig. So war der Rand oft anders gefärbt als der Kern. Die in Tabelle I angegebenen Anfärbungen mit Jodplateatreagenz sind also nur bedingt richtig und durch entsprechende Vergleiche zu bestätigen. Andere spezifische Anfärbereagenzien sind in der Literatur beschrieben^{14–19}.

ZUSAMMENFASSUNG

Alkaloide lassen sich am schnellsten adsorptionschromatographisch auf Dünnschichtplatten entwickeln. Das Verhalten von über 50 Alkaloiden in verschiedenen Entwicklern ermöglicht es, zwei Gruppen von Alkaloiden zu bilden. Nach Ermittlung der Gruppenzugehörigkeit können die Alkaloide auf Grund der in Tabellen angegebenen R_F -Werte und Anfärbbarkeit identifiziert werden.

SUMMARY

The most rapid method of separating alkaloids is thin-layer chromatography. From investigations with more than 50 alkaloids it was found that the alkaloids can be divided into two groups, according to their behaviour with various solvent systems. After establishing to which group an alkaloid belongs, it can be identified by means of the table of R_F values and colour reactions, given in this paper.

LITERATUR

- ¹ D. WALDI, *Arch. Pharm.*, 292 (1959) 206.
- ² E. STAHL, *Pharmazie*, 11 (1956) 633.
- ³ E. STAHL, *Chemiker Ztg.*, 82 (1958) 323.
- ⁴ E. STAHL, *Parfümerie u. Kosmetik*, 39 (1958) 564.
- ⁵ E. STAHL, *Arch. Pharm.*, 292 (1959) 411.
- ⁶ E. STAHL, *Arch. Pharm.*, 293 (1960) 531.
- ⁷ E. STAHL, *Pharmazeutische Rundschau*, 1 (1959) Sonderausgabe Nr. 2.
- ⁸ D. WALDI UND F. MUNTER, *Medicina Experimentalis*, 3 (1961) 45.
- ⁹ J. REICHEL, *Pharmazie*, 13 (1958) 24.
- ¹⁰ K. MACEK UND S. VANECEK, *Chem. listy*, 52 (1959) 618.
- ¹¹ K. MACEK UND S. VANECEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 24 (1959) 723.
- ¹² M. A. RESPLANDY, *Compt. rend.*, 238 (1954) 2527.
- ¹³ M. A. RESPLANDY, *Ann. pharm. franç.*, 17 (1959) 435.
- ¹⁴ M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, Bd. I, G. Fischer, Jena, 1958.
- ¹⁵ E. LEDERER UND M. LEDERER, *Chromatography*, Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1957.
- ¹⁶ H. F. LINSKENS, *Papierchromatographie in der Botanik*, Springer Verl., Berlin, 1959.
- ¹⁷ F. CRAMER, *Papierchromatographie*, Verl. Chemie, Weinheim/Bergstr., 1958.
- ¹⁸ R. J. BLOCK, R. LESTRANGE UND G. ZWEIF, *Paper Chromatography*, Academic Press, Inc., New York, 1959.
- ¹⁹ O. E. SCHULTZ UND D. STRAUSS, *Arzneimittelforsch.*, 5 (1955) 342.

J. Chromatog., 6 (1961) 61-73