

Short Communications

Dünnschichtchromatographie von Carbobenzoxy-aminosäuren

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob sich Cbo-Peptide und Cbo-Aminosäuren untereinander und von ungeschützten Aminosäuren und Peptiden dünn-schichtchromatographisch auf Kieselgel G trennen lassen. Damit wäre es möglich, Peptidsynthesen über Cbo-Verbindungen in kurzer Zeit chromatographisch zu verfolgen.

In der Literatur wurde bisher auf dem Aminosäure- und Peptidgebiet die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G¹ von freien Aminosäuren^{2,3}, N-(2,4-Dinitrophenyl)-aminosäuren⁴, 3-Phenyl-2-thiohydantoinen^{5,4} und verschiedenen isomeren Peptidpaaren in einer theoretischen Arbeit⁶ beschrieben, die Dünnschichtchromatographie von Cbo-Aminosäureestern von Diolen (Dihydroxytetrahydrofuran und Dihydroxycyclopentan)⁷ ohne Angabe von R_F -Werten erwähnt.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G gelang es uns, einige Cbo-Aminosäuren, Cbo-Peptide, Cbo-Peptidester, Aminosäuren und Peptide mit freier Aminogruppe und Aminosäureesterhydrochloride zu trennen. Als Laufmittel wurden *n*-Butanol-(Aceton)-Ammoniak-Wasser in verschiedenen Mischungsverhältnissen oder *n*-Butanol-Eisessig-Wasser-Pyridin verwendet. Die einzelnen Verbindungsklassen liegen hierbei in verschiedenen Zonen, Cbo-Peptidester in Frontnähe, Cbo-Peptide etwas weiter zurück, freie Aminosäuren und Peptide mehr in Startnähe, Aminosäureesterhydrochloride etwa in der Mitte. Alle Verbindungsklassen können auf *einem* Chromatogramm sichtbar gemacht werden.

Experimentelles

Die Kieselgel G-Platten* wurden nach³ hergestellt.

Laufmittel

*Gemisch 1***: *n*-Butanol-Aceton-Eisessig-Ammoniak (conz. $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O} = 1:4$)-Wasser (4.5:1.5:1:1:2).

Gemisch 2: *n*-Butanol-Eisessig-Ammoniak (conz. $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O} = 1:4$), (5.5:3:1.5).

Gemisch 3: *n*-Butanol-Eisessig-Ammoniak (conz. $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O} = 1:4$)-Wasser (6:1:1:2).

Zweiphasiges Gemisch; beide Phasen wurden verwendet, wobei die Kieselgelschicht jedoch nur in die obere Phase eintauchte.

* Kieselgel G der Fa. Merck, Darmstadt.

** Dieses Gemisch wurde vorgeschlagen von Dr. K. RANDEATH, Darmstadt. Es konnten damit auch Nucleotide an Celluloseschichten getrennt werden⁸.

Gemisch 4: n-Butanol-Eisessig-Wasser-Pyridin (15:3:12:10).

Um reproduzierbare R_F -Werte zu erhalten, empfiehlt es sich, mit frisch angesetzten Gemischen zu arbeiten.

Laufzeit

2 Stunden für 8 bis 10 cm.

Entwickeln der Chromatogramme

Nach dem Trocknen der Chromatogramme, etwa 10–15 Minuten bei 120–150° werden die noch heißen Platten mit Ninhydrinlösung (0.2 %ige Ninhydrinlösung in 95 % *n*-Butanol und 5 % 2 *N* Essigsäure) nicht zu stark besprüht, die entstandenen Flecke von freien Aminosäuren, Peptiden und Aminosäureesterhydrochloriden markiert, nochmals kurz auf 120–150° gebracht und dann mit einer gesättigten Lösung von $K_2Cr_2O_7$ in konz. H_2SO_4 nicht zu stark besprüht, wobei Cbo-Verbindungen (und auch Peptide oder Aminosäuren mit Phenylkern) als dunkelgraue Flecken er-

TABELLE I

Substanz	<i>Gemisch 1</i>	<i>Gemisch 2</i>	<i>Gemisch 3</i>	<i>Gemisch 4</i>
	Bu:Ac:Et: Am:Wa*	Bu:Ac:Et: Am:Wa	Bu:Ac:Et: Am:Wa	Bu:Et Wa:Py
	4.5:1.5:1:1:2	5.5:0:3:1.5:0	6:0:1:1:2	15:3:12:10
CbO-Gly	0.81	0.76	0.74	0.64
CbO-Digly	0.66	0.65	0.56	0.56
CbO-Trigly	0.57	0.56	0.41	0.50
CbO-Tetragly	0.51	0.43	0.26	0.45
CbO-Digly-OEt	0.82	0.73	0.75	0.74
CbO-Trigly-OEt	0.76	0.67	0.68	0.69
CbO-DL-Ala-gly-OEt	0.81	0.75	0.79	0.77
CbO-DL-Ala	0.77	0.77	0.74	0.61
CbO-DL-Diala	0.72	0.72	0.68	0.59
CbO-Gly-DL-ala	0.68	0.68	0.63	0.56
CbO-DL-Ala-gly	0.68	0.68	0.61	0.57
CbO-Gly-DL-ala-gly	0.61	0.59	0.50	0.54
CbO-DL-Phe-gly-OEt	0.86	0.83	0.80	0.76
CbO-Gly-DL-phe-OEt	0.84	0.79	0.77	0.76
CbO-Gly-gly-DL-phe-OEt	0.81	0.75	0.69	0.76
CbO-Gly-DL-phe-gly-OEt	0.83	0.78	0.76	0.74
CbO-DL-Ala-DL-phe	0.78	0.78	0.72	0.61
CbO-Gly-DL-phe	0.72	0.76	0.69	0.65
CbO-Gly-L-ileu	0.75	0.73	0.74	0.67
CbO-Gly-L-leu	0.74	0.74	0.69	0.65
CbO-Gly-gly-L-leu	0.71	0.69	0.63	0.65
CbO-Gly-L-glu	0.72	0.71	0.65	0.62
CbO-DL-Phe	0.74	0.76	0.77	0.75
Gly-gly	0.17	0.25	0.04	0.15
DL-Ala-gly	0.21	0.30	0.09	0.22
Gly-L-leu	0.43	0.44	0.24	0.41
Gly	0.22	0.29	0.10	0.21
DL-Ala	0.27	0.34	0.14	0.27
DL-Phe	0.45	0.42	0.31	0.46
HCl-DL-Phe-OEt	0.59	0.52	0.44	0.65
HCl-Gly-OEt	0.43	0.42	0.24	0.53

* Bu = *n*-Butanol; Ac = Aceton; Et = Eisessig; Am = 1 Vtl. konz. NH_3 + 4 Vtl. H_2O ; Wa = Wasser; Py = Pyridin.

scheinen. Gegebenenfalls müssen die Chromatogramme nach dem Besprühen mit Chromschwefelsäure noch etwas erhitzt werden (am zweckmässigsten auf einer elektrischen Kochplatte mit Asbestplatte). Das vorausgehende Besprühen mit Ninhydrin stört den folgenden Nachweis mit Chromschwefelsäure nicht. Allerdings verschwinden die mit Ninhydrin gebildeten Flecke beim Besprühen mit Chromschwefelsäure.

Die untere Erfassungsgrenze für Cbo-Verbindungen liegt etwas höher als bei den freien Aminoverbindungen, etwa 3γ gegenüber 1γ . 10γ einer Cbo-Verbindung geben noch einen scharfen Fleck; keine Schwanzbildung.

Durch Besprühen mit Fluoresceinlösung können Cbo-Verbindungen im UV-Licht⁹ auf der Kieselgelschicht grundsätzlich auch sichtbar gemacht werden, jedoch werden Mengen $< 5\gamma$ leicht überdeckt.

Der Nachweis von Cbo- und freien Aminoverbindungen über N-Chloramine mittels Cl_2 und anschliessendes Besprühen mit KJ-Stärke-Lösung¹⁰ bzw. o-Tolidinlösung¹¹ nimmt mehr Zeit in Anspruch und gelingt nicht immer.

Die erhaltenen R_F -Werte sind in Tabelle I angegeben.

*Lehrstuhl II für Organische Chemie, Technische Hochschule,
Darmstadt (Deutschland)*

ERIKA EHRHARDT
FRIEDRICH CRAMER

¹ E. STAHL, *Chemiker-Ztg.*, 82 (1958) 323.

² E. NÜRNBERG, *Arch. Pharm.*, 292, 64 (1959) 610.

³ M. BRENNER UND A. NIEDERWIESER, *Experientia*, 16 (1960) 378.

⁴ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER UND G. PATAKI, *Experientia*, 17 (1961) 145.

⁵ E. CHERBULIEZ, B. BAehler UND J. RABINOWITZ, *Helv. Chim. Acta*, 43 (1960) 1871.

⁶ M. BRENNER UND G. PATAKI, *Helv. Chim. Acta*, 44 (1961) 1420.

⁷ H. G. ZACHAU UND W. KARAU, *Chem. Ber.*, 93 (1960) 1830.

⁸ K. RANDErATH UND H. J. STRUCK, *J. Chromatog.*, 6 (1961) 365.

⁹ TH. WIELAND UND L. BAUER, *Angew. Chem.*, 63 (1951) 511; TH. WIELAND UND B. HEINKE, *Ann.*, 615 (1958) 193.

¹⁰ H. N. RYDON UND P. W. G. SMITH, *Nature*, 169 (1952) 922.

¹¹ F. REINDEL UND W. HOPPE, *Chem. Ber.*, 87 (1954) 1103; O. J. SCHMID, *J. Chromatog.*, 3 (1960) 499.

Eingegangen den 27. November 1961

J. Chromatog., 7 (1962) 405-407

Separation of alkanals and alkanones with carbonyl groups in different positions by thin-layer chromatography

The chromatographic separation and determination of alkanals and alkanones have become important operations in connection with studies of fat oxidation and flavour. In the methods described earlier in the literature dinitrophenylhydrazine derivatives were mainly used for the separation, especially on paper.

It has now been shown in this communication that thin-layer chromatography is suitable for the direct separation of alkanals and alkanones and that in this way

J. Chromatog., 7 (1962) 407-408