

Results and discussion

Fig. 1 shows the TLC separation of pure fatty acid methyl esters. The two sections depict separate runs, and the same compound may occur in both plates. $R_F \times 100$ values were as follows: laurate 53, myristate 47, palmitate 41, stearate 34, arachidate 28, behenate 21, oleate 53, petroselinic 53, elaidate 47, linoleate 61, linolenate 70, ricinoleate 70, and erucate 41. Fig. 1A shows a clear separation of unsaturated esters of the same chain length differing in the number of double bonds, such as oleate, linoleate and linolenate, and of saturated esters differing in chain length by two carbon atoms. The common critical pairs, *viz.* linoleate and myristate, oleate and palmitate, are fully resolved.

Separation of a *cis* from a *trans* isomer, *viz.* oleate and elaidate, is also achieved (Fig. 1B). Positional isomers, such as oleate and petroselinic, are not resolved. The following esters also move together: linolenate and ricinoleate, oleate and laurate, elaidate and myristate, and erucate and palmitate. These pairs can of course be separated by ordinary reversed-phase TLC using silicone oil as the stationary phase⁵.

Fig. 2 shows the TLC separation of the methyl esters of the mixed fatty acids of six vegetable oils of known composition. A clear separation of the esters, with the exception of the pairs just noted, was achieved.

Regional Research Laboratory, Hyderabad (India)

M. M. PAULOSE

1 L. D. BERGELSON, E. V. DYATLOVITSKAYA AND V. V. VORONKOVA, *J. Chromatog.*, 15 (1964) 191.

2 T. W. HAMMONDS AND G. SHONE, *J. Chromatog.*, 15 (1964) 200.

3 G. VERESHCHAGIN, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 382.

4 S. VENKOB RAO, quoted in M. W. ROOMI, M. R. SUBBARAM AND K. T. ACHAYA, *J. Chromatog.*, 16 (1964) 106.

5 D. C. MALINS AND H. K. MANGOLD, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 37 (1960) 576.

Received July 16th, 1965

J. Chromatog., 21 (1966) 141-143

Dünnschichtchromatographische Trennung einiger Purinderivate einschliesslich Harnsäure

Über die Trennung von Xanthin- bzw. Purinderivaten liegen Literaturangaben vor.

BAEHLER¹ trennte Theophyllin, Theobromin und Coffein:

(1) Äthylacetat-Methanol-12 N HCl (18:2:0.05);

(2) Äthylacetat-Methanol-Eisessig (8:1:1);

(3) Chloroform-Methanol (19:1).

Der Nachweis erfolgte durch Sublimation an einer über das Chromatogramm gelegten gekühlten Glasplatte.

TEICHERT, MUTSCHLER UND ROCHELMMEYER², verwandten mit Phosphat gepufferte Kieselgel G-Schichten und als Fließmittel Chloroform-Äthanol (96 %ig)

J. Chromatog., 21 (1966) 143-145

(9:1). Detektiert wurde mit alkoholischer Jod-Jodkalium-Lösung und anschliessend mit einem Äthanol-Salzsäure-Gemisch.

RANDERATH UND STRUCK^{3,4} konnten auf Cellulose- bzw. Cellulose-Ionen-austauscherschichten Adenin, Guanin und Hypoxanthin neben einigen Nucleosiden trennen. Als Fliessmittel diente dest. Wasser. Der Nachweis erfolgte durch Fluoreszenzlöschung im kurzwelligem U.V.-Licht.

Nach RANDERATH⁵ soll Kieselgel G weniger geeignet sein, da infolge seiner starken Eigenabsorption des U.V.-Lichts die Erfassungsgrenze für die Nucleobasen, Nucleoside und Nucleotide viel höher liegt als bei Cellulose- und bei Cellulose-Ionen-austauscherschichten.

CERRI UND MAFFI⁶ berichteten 1961 über eine dünnschichtchromatographische Trennung von Harnsäure, Xanthin, Hypoxanthin und 6-Mercaptopurin bzw. von Xanthin, Theopyllin und Coffein auf Kieselgel G-Schichten. Als Fliessmittel diente wassergesättigtes Butanol, das 2,5 % Ammoniak ($D = 0.910$) enthielt. Detektiert wurde mit angesäuerter alkoholischer Jod-Jodkalium-Lösung. Hierbei blieb jedoch Harnsäure am Startpunkt liegen, nur die anderen Purinderivate wanderten.

Wir versuchten nun, ein Fliessmittel ausfindig zu machen, in dem Harnsäure sich vom Startpunkt entfernt. Gleichzeitig sollte auch eine Trennung von anderen Xanthin- bzw. Purinderivaten erreicht werden. Beides gelang durch Verwendung von mit Piperazin imprägnierten Kieselgel-Schichten und Isopropanol-Chloroform-10 %ige wässrige Piperazinlösung (60:20:20, v/v) als Fliessmittel.

Experimentelles

Sorptionsschicht. Zur Herstellung der Sorptionsschicht werden 30.0 g Kieselgel HF 254 (Merck) mit 70 ml 10 %iger wässriger Piperazinlösung homogen angerieben und mit Hilfe eines Streichgerätes auf die Platten gebracht. (Die angegebene Menge

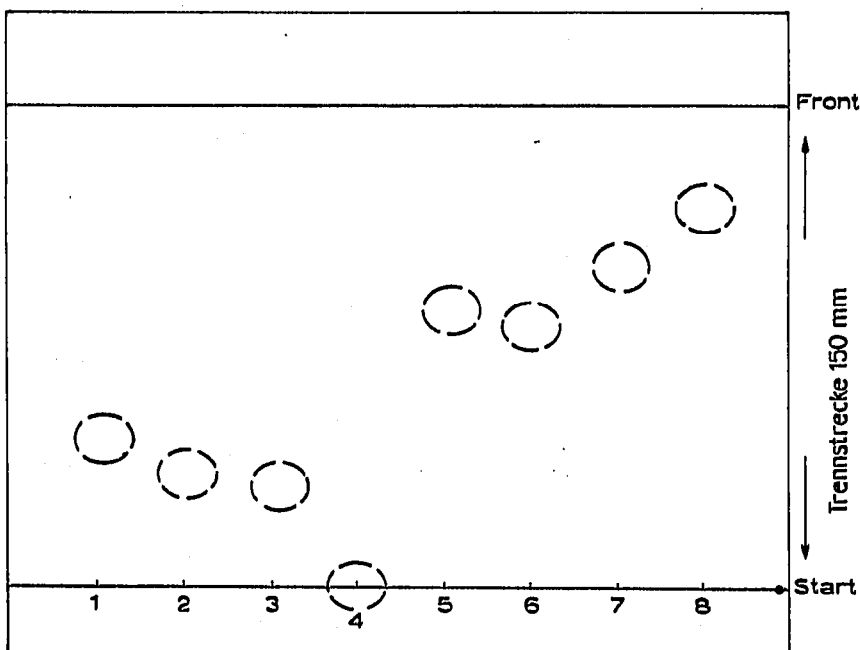


Fig. 1. Schematische Darstellung der getrennten Purinderivate. 1 = Hypoxanthin; 2 = Xanthin; 3 = Harnsäure; 4 = Guanin; 5 = Adenin; 6 = Theophyllin; 7 = Theobromin; 8 = Coffein.

reicht für 5 Platten 200×200 mm bei einer Schichtdicke von 0.25 mm aus.) Die beschichteten Platten lässt man an der Luft trocknen.

Elutionsgemisch. Als Elutionsgemisch dient: Isopropanol-Chloroform-10%ige wässrige Piperazinlösung (60:20:20 v/v).

Die aufgetragene Menge betrug 10–50 γ in 5 μ l Lösungsmittel.

Herstellung der Vergleichslösungen. Dazu werden Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure, Adenin, Theophyllin und Coffein in 10%iger wässriger Piperazinlösung gelöst, Guanin in 15%iger Natronlauge und Theobromin in heissem Wasser.

Chromatographiert wird bei Raumtemperatur und Kammersättigung.

Die *Laufzeit* beträgt 2–2 $\frac{1}{2}$ Stunden bei einer *Trennstrecke* von 15 cm. Nach dem Entwickeln lässt man an der Luft trocknen.

TABELLE I

R_F -WERTE EINIGER PURINDERIVATE

(1) Hypoxanthin	0.31
(2) Xanthin	0.24
(3) Harnsäure	0.22
(4) Guanin	0.00
(5) Adenin	0.58
(6) Theophyllin	0.55
(7) Theobromin	0.67
(8) Coffein	0.80

Der *Nachweis* der getrennten Substanzen erfolgt im kurzwelligen U.V.-Licht. Sie sind als dunkle Flecken (Fluoreszenzlöschung) auf fluoreszierendem Untergrund zu erkennen.

Die R_F -Werte sind in Tabelle I ersichtlich.

Pharmazeutisches Institut der Universität
Bonn (Deutschland)

MELANIE RINK†
AGNES GEHL

- 1 Br. BAEHLER, *Helv. Chim. Acta*, 45 (1962) 309.
- 2 K. TEICHERT, E. MUTSCHLER UND H. ROCHELMAYER, *Deut. Apotheker-Ztg.*, 100 (1960) 283.
- 3 K. RANDEARTH UND H. STRUCK, *J. Chromatog.*, 6 (1961) 365.
- 4 K. RANDEARTH, *Angew. Chem.*, 73 (1961) 674.
- 5 K. RANDEARTH, *Angew. Chem.*, 73 (1961) 436.
- 6 O. CERRI UND G. MAFFI, *Boll. Chim. Farm.*, 100 (1961) 940.

Eingegangen den 22. Juli 1965

† Frau Prof. M. RINK verstorben am 24. Juli 1965.

J. Chromatog., 21 (1966) 143–145