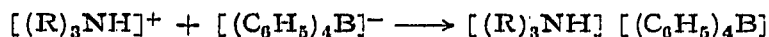


Dünnschichtchromatographische Trennung von Gemischen aus Adrenalin- und Noradrenalin-tetraphenylboranat

Die Fällbarkeit von aliphatischen und aromatischen Stickstoffbasen als Tetraphenylboranate mit Natrium-tetraphenylboranat (Kalignost) im sauren pH-Bereich entsprechend:



und die in vielen Fällen hohe Empfindlichkeit dieser Fällungsreaktion¹ bietet sich zur Isolierung von besonders solchen basischen Verbindungen an, die sich auf Grund ihrer hohen Oxidabilität im alkalischen Milieu nur schwer unzersetzt extrahieren lassen.

Wir beschäftigen uns seit einiger Zeit mit der Frage, ob sich solche in der klinisch-biochemischen Analytik zu Bedeutung gelangten Hydroxy-phenylalkylamine (Katechinamine) wie Adrenalin, Noradrenalin usw. auf diesem Wege aus biologischem Material gemeinsam isolieren, dünnschichtchromatographisch trennen und quantitativ bestimmen lassen. Die meisten Verfahren zur Isolierung und Abtrennung von Hydroxy-phenylalkylaminen aus Extrakten biologischen Materials sind wegen der hohen Instabilität der freien Basen stets mit Verlusten verbunden. Mit der Überführung in Tetraphenylboranate (TPB) wird einmal das alkalische Milieu vermieden, zum anderen werden relativ stabile Verbindungen zur weiteren Analyse gewonnen.

Eine kürzlich von EL GENDI, KISSER UND MACHATA² publizierte Arbeit über die Isolierung und den Nachweis von stickstoffhaltigen Arzneimitteln in der Toxikologie mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie veranlasst uns zu einer kurzen Mitteilung über unsere noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen auf diesem Gebiet.

Entgegen den Angaben von KELLER UND WEISS³ wird Adrenalin von Natrium-TPB gefällt. Ebenso verhält sich Noradrenalin. Auch andere, in Tabelle I aufgeführte Hydroxy-phenylalkylamine liefern weisse, voluminöse Niederschläge in unterschiedlicher Ausbeute. Unter geeigneten Bedingungen gelingt es, die Fällungen nahezu quantitativ zu gestalten.

TABELLE I

ÜBERSICHT ÜBER DIE MIT NATRIUM-TETRAPHENYLBORANAT GEFÄLLTEN HYDROXY-PHENYLALKYLAMINE

Adrenalin	1-(3',4'-Dihydroxyphenyl)-2-(N-methylamino)-äthanol-1
Dihydroxytyramin	2-(3',4'-Dihydroxyphenyl)-äthylamin
Ephedrin	1-Phenyl-2-(N-methylamino)-propanol-1
N-Methylephedrin	1-Phenyl-2-(N-dimethylamino)-propanol-1
Noradrenalin	1-(3',4'-Dihydroxyphenyl)-2-aminoäthanol-1
Norephedrin	1-Phenyl-2-aminopropanol-1
Novodrin	1-(3',4'-Dihydroxyphenyl)-2-(N-isopropylamino)-äthanol-1
Pholedrin	1-(4'-Hydroxyphenyl)-2-(N-methylamino)-propan
Pentadrin	1-(4'-Hydroxyphenyl)-2-(N-methylamino)-äthanol-1
Butedrin	1-(4'-Hydroxyphenyl)-2-(N-butylamino)-äthanol-1

Alle so gewonnenen TPB sind in Aceton sehr leicht löslich. Diese Lösungen können auf Dünnschicht-Chromatogrammen, die mit dem Sorptionsmittel Kieselgel G (Merck) beschichtet wurden, direkt aufgetragen und die TPB getrennt werden. Adrenalin und Noradrenalin lassen sich durch Gemische aus *n*-Butanol, Eisessig und Wasser (z.B. 4:1:5, v/v) als Fließmittel dünn-schichtchromatographisch vollständig trennen, wenn das Fließmittel die Trennstrecke von 10 cm dreimal durchläuft oder einfacher, die sogenannte Durchlauftechnik⁴ eingesetzt wird.

Mit der meist angewandten Laufstrecke von 10 cm werden auch hier für qualitative Untersuchungen ausreichende Trennergebnisse erzielt. Die ermittelten R_F -Werte betragen für Adrenalin 0.29, für Noradrenalin 0.40.

Als Nachweisreagentien wurden 2,6-Dichlorchinonchlorimid, Echtsalz Al (als stabiles Diazoniumsalz) sowie Eisen(III)-chlorid kombiniert mit Kalium-hexacyanoferrat(III) geprüft. Am empfindlichsten ist der Nachweis auf Dünnschicht-Chromatogrammen mit Eisen(III)-chlorid und Kalium-hexacyanoferrat(III). Noch 10 ng Adrenalin bzw. Noradrenalin lassen sich sicher nachweisen. Mit dieser Reaktion ist auch das TPB-Anion und im Falle der Verwendung der Hydrogentartrate von

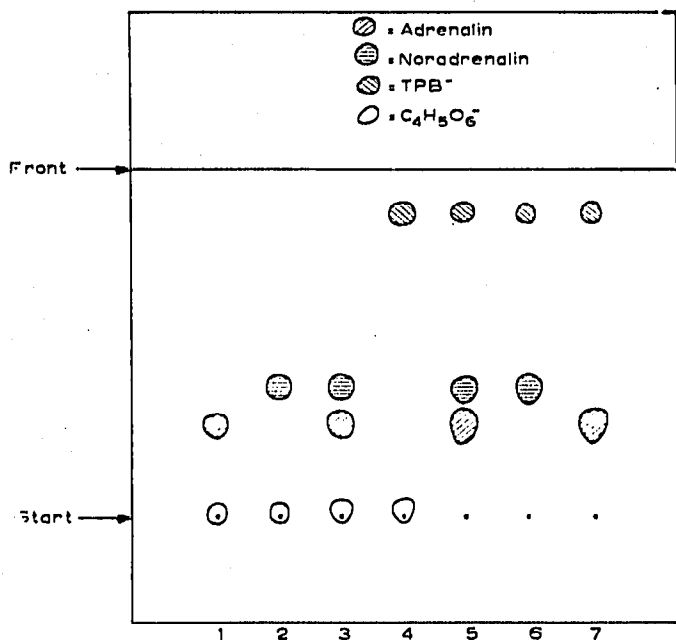


Fig. 1.

Fig. 1. Wiedergabe eines Dünnschichtchromatogrammes. Trennung von Adrenalin- und Noradrenalin-TPB bzw. von Adrenalin- und Noradrenalin-Hydrogentartrat. Identifizierung des TBP- und $C_4H_5O_6^-$ -Anions. Fließmittel: Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5, v/v). Ohne Kammersättigung. 1 = Adrenalinhydrogentartrat; 2 = Noradrenalinhydrogentartrat; 3 = Adrenalin- und Noradrenalinhydrogentartrat; 4 = Weinsäure und Natrium-TPB; 5 = Adrenalin-TPB und Noradrenalin-TPB; 6 = Noradrenalin-TPB; 7 = Adrenalin-TPB.

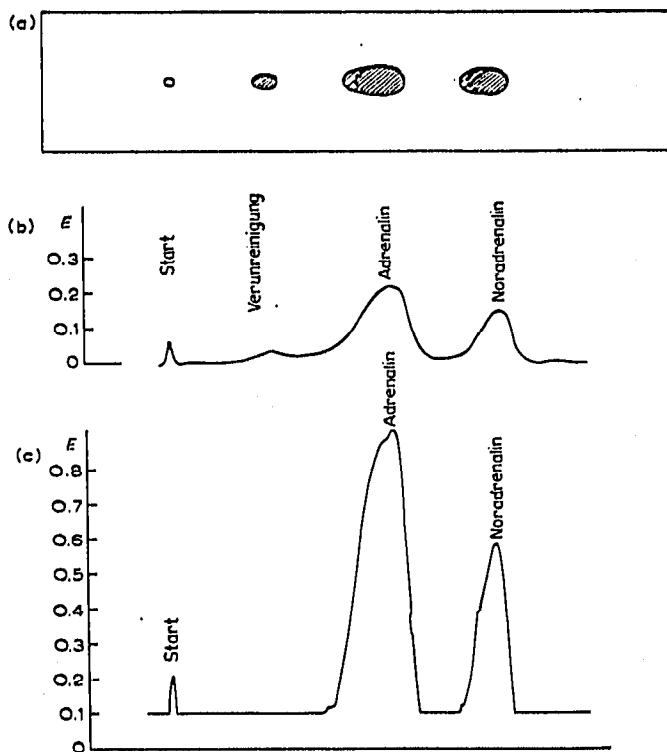


Fig. 2.

Fig. 2. (a) Dünnschichtchromatographische Trennung von Adrenalin- und Noradrenalin-TPB bei Anwendung der Durchlauftechnik. Fließmittel: Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5, v/v). (b) Extinktionsregistrierkurve des Chromatogramms 2a, Empfindlichkeit 0.5, Spaltbreite 18 mm. (c) Empfindlichkeit > 0.5, Spaltbreite 9 mm, ohne Nullpunkteinstellung.

Adrenalin und Noradrenalin zur Dünnschicht-Chromatographie das Hydrogentartrat- bzw. Tartrat-anion nachweisbar.

Es zeigte sich bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung der TPB bzw. der Hydrogentartrate, dass mit dem angegebenen Fließmittel die Anionen der aufgetragenen Salze unabhängig von den Kationen wandern (vgl.²) und ebenfalls chromatographisch aufgetrennt werden. Da sich das TPB-Anion in Fließmittelfrontnähe findet, wird der Nachweis der Kationen nicht beeinflusst. Der Beweis, dass die Anionen getrennt von den Kationen wandern, konnte durch Parallelchromatographie von Natrium-TPB einerseits und Weinsäure andererseits erbracht werden (Fig. 1).

Um die dünnschichtchromatographische Trennung für quantitative Messungen nutzen zu können, wurden die Beziehungen zwischen der Farbdichte der $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -Reaktionsprodukte und der Konzentration der Hydroxy-phenylalkylamine untersucht. Zu diesem Zweck wurde die Dünnschicht-Chromatographie auf 4 mal 15 cm messenden Glasplatten ausgeführt, die dem Extinktionsregistriergerät ERI 10 (VEB Carl Zeiss, Jena) zugehören. Mit diesem Extinktionsschreiber wurden die Dünnschicht-Chromatogramme abgetastet. Ein solches Chromatogramm mit der dazugehörigen Registrierkurve zeigen die Fig. 2a und 2b. Es ist zu erkennen, dass an Hand der Registrierkurve R_F -Wert-Messungen genauer möglich sind als mit den üblicherweise angewandten Methoden, da die Abschnitte maximaler Farbdichte auf dem Chromatogramm eindeutig durch die Maxima des Kurvenzuges gegeben sind. Besonders deutlich zeigt dies Fig. 2c, wo die Registrierkurve des Chromatogramms 2a bei erhöhter Empfindlichkeit unter gleichzeitigem Verzicht auf die Einstellung der Basislinie auf den Nullpunkt des Gerätes aufgenommen wurde. Prüfungen des Zusammenhanges zwischen der Konzentration der zur Dünnschicht-Chromatographie eingesetzten TPB und der Fläche unter den die Einzelfractionen darstellenden Verteilungskurven sind noch in Arbeit.

*Institut für Organische Chemie der Universität Leipzig
und Zentrallaboratorium des Kreiskrankenhauses Borna bei
Leipzig (D.D.R.)*

S. HAUPTMANN
J. WINTER

1 A. J. BARNARD UND W. W. WENDLANDT, *Rev. Soc. Quim. Mex.*, 3 (1959) 269.

2 S. EL GENDI, W. KISSER UND G. MACHATA, *Mikrochim. Acta*, (1965) 120.

3 W. KELLER UND F. WEISS, *Pharmazie*, 12 (1957) 19.

4 E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie*, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962.

Eingegangen den 27. Juli 1965

J. Chromatog., 21 (1966) 338-340