

Dünnschichtchromatographische Trennung von Diastereomeren an Kieselgel-D

Zur einfachen Identifizierung des Produktverhältnisses diastereomerer Verbindungen wird deren dünn-schichtchromatographische Trennung für folgende Substanzen untersucht:

- (a) *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-indan,
- (b) *erythro*- und *threo*-1,3-Diphenyl-3-amino-propanol-(1),
- (c) *erythro*- und *threo*-1,2-Diphenyl-3-amino-propanol-(1),
- (d) *erythro*- und *threo*-1,2-Diphenyl-2-amino-äthanol-(1),
- (e) *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-tetralin,
- (f) *trans*- und *cis*-2-Phenyl-2-hydroxy-1-amino-cyclohexan,
- (g) *meso*- und DL-1,2-Diphenyl-1,2-dibrom-äthan (Stilbendibromid),
- (h) *meso*- und DL-1,2-Diphenyl-1,2-dichlor-äthan (Stilbendichlorid),
- (i) *meso*- und DL-1,2-Diphenyl-1,2-dinitro-äthan.

Die Wanderungsgeschwindigkeit und der daraus resultierende R_F -Wert einer Substanz ist das Ergebnis ihrer Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel und dem Adsorbens. Die Art der Wechselwirkungen reicht von den v. d. Waals'schen Kräften über Wasserstoffbrückenbindungen bis zu Komplexbildungen in Lösung¹.

Unsere Untersuchungen erstrecken sich auf Diastereomere mit und ohne intramolekularer Wasserstoffbrückenbindung.

Aus den IR-Spektren der genannten Aminoalkohole² ergeben sich aus sterischen Gründen unterschiedliche Wasserstoffbrückenbindungsstärken innerhalb eines Diastereomerenpaares. Wenn das Laufmittelsystem selbst eine zur Wasserstoffbrückenbindung befähigte Komponente aufweist, so sollte deren Wechselwirkung mit dem Diastereomeren ohne oder geringerer intramolekularer Wasserstoffbrücke grösser sein als mit der isomeren Verbindung. Demzufolge würde die Substanz mit der stärkeren intramolekularen Wasserstoffbrücke langsamer laufen als die diastereomere Verbindung.

Im Falle des *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-indan, einem weitgehend starren System, zeigt das IR-Spektrum der *cis*-Verbindung keine freie OH-Bande mehr, während die *trans*-Verbindung ausschliesslich freie OH-Bande aufweist. Dadurch wird es auch leicht verständlich, dass die *cis*-Verbindung mit der wasserstoffbrückenbildenden Laufmittelkomponente weniger in Wechselwirkung treten kann und im Chromatogramm langsamer wandert als der *trans*-1,2-Aminoalkohol des Indans. Diese Anschauungen werden experimentell bestätigt. Bei den anderen untersuchten Aminoalkoholen ist die Rotation um die C-C-Bindung bzw. das Umklappen der einen cyclischen Form in die andere auf Grund der sterischen Beeinflussung durch die grossen Substituenten nur teilweise gehindert.

Die Folge hiervon ist ein gleichzeitiges Auftreten von gebundener und freier OH-Bande bei jedem Aminoalkohol. Relativ grosse Unterschiede in der Wasserstoffbrückenbindungsstärke ergeben sich noch beim *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-tetralin, wo ebenfalls gute Trennungen erzielt werden. Bei allen anderen untersuchten Aminoalkoholen werden unter den Versuchsbedingungen keine oder nur sehr geringe Trenneffekte erreicht.

In der Literatur³⁻⁷ finden sich Hinweise, dass Borsäure einen positiven Einfluss

auf die Trennung von Diastereomeren ausübt. Wir haben dieses Verfahren auf die genannten Aminoalkohole angewendet und mit Hilfe der Borsäureimprägnierung des Kieselgel-D in allen Fällen eine Trennung erreicht. Durch Variation der Borsäurekonzentration kann deren Einfluss auf die Trennwirkung untersucht werden.

trans- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-indan und *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-tetralin geben auch ohne Zusatz von Borsäure zum Adsorbens eine Trennung. Das Maximum der Trennung liegt jedoch bei beiden diastereomeren Aminoalkoholpaaren bei Verwendung von 0.1 N Borsäurelösung. Insgesamt werden mit dem Laufmittelgemisch Dioxan-Methanol verschiedener Zusammensetzungen die besten Trenneffekte erhalten.

Die übrigen untersuchten Aminoalkoholpaare *erythro*- und *threo*-1,3-Diphenyl-3-amino-propanol-(1), *erythro*- und *threo*-1,2-Diphenyl-3-amino-propanol-(1), *erythro*- und *threo*-1,2-Diphenyl-2-amino-äthanol-(1) und *trans*- und *cis*-2-Phenyl-2-hydroxy-1-amino-cyclohexan können nur durch Borsäurezusatz befriedigend getrennt werden. Das Maximum der Trennung liegt bei Verwendung von 0.1-0.2 N Borsäurelösung. Die *threo*- bzw. die *cis*-Formen der genannten Aminoalkohole treten mit dem Komplexbildner stärker in Wechselwirkung, woraus eine geringere Wanderungsgeschwindigkeit im Chromatogramm folgt. Eine Ausnahme bildet nur 1,3-Diphenyl-3-amino-propanol-(1). Hier sind die Verhältnisse der Wasserstoffbrückenbindungsstärke umgekehrt, so dass bei diesem Aminoalkoholpaar die *erythro*-Form vom Komplexbildner stärker festgehalten wird. Die Tabellen I-VI geben eine Übersicht über die erzielten Trennungen.

Die R_F -Werte sind Mittelwerte einer Vielzahl von Versuchen. In den Tabellen ist neben den R_F -Werten ihre Differenz angeführt, da der R_F -Wert von vielen Faktoren beeinflusst wird, die seine genaue Reproduktion erschweren. Die Angabe der R_F -Wertdifferenz behebt diese Schwierigkeit insofern, als bei der Standardlaufstrecke von 10 cm das Verhältnis der Wanderungsgeschwindigkeit für das Diastereomerenpaar gleichbleibt.

Aus den Trennungsergebnissen geht hervor, dass die unterschiedliche Wasserstoffbrückenbildungstendenz nur teilweise zur dünnschichtchromatographischen Trennung ausgenutzt werden kann.

Die Komplexbildung mit Borsäure führt jedoch bei allen untersuchten Aminoalkoholen zu einer Trennung. Die Wechselwirkungen zwischen Substanz und Adsorbens sind sehr gross, denn zum Entwickeln des Chromatogramms werden stark eluierende Laufmittelgemische verwendet.

Bei der Untersuchung von *meso*- und DL-1,2-Diphenyl-1,2-dibrom-äthan, *meso*- und DL-1,2-Diphenyl-1,2-dichlor-äthan und *meso*- und DL-1,2-Diphenyl-1,2-dinitro-äthan können ohne Komplexbildner keine oder nur sehr geringe Trennungen erzielt werden. Diese Substanzen lassen sich nur mit den am schwächsten eluierenden Laufmitteln wie Hexan, Heptan und Cyclohexan entwickeln, da sie sonst zu nahe an der Lösungsmittelfront liegen.

Als Komplexbildner werden bei diesen Verbindungen 0.1 N Borsäure und 0.1 M Harnstofflösung verwendet.

Die diastereomeren 1,2-Diphenyl-1,2-dibrom-äthane und die 1,2-Diphenyl-1,2-dinitro-äthane geben gute Trennungen, wie aus den Tabellen VII und VIII hervorgeht. Lediglich beim DL-1,2-Diphenyl-1,2-dinitro-äthan tritt eine Isomerisierung zum *meso*-Produkt auf, wenn Harnstoff der Komplexbildner ist. Die diastereomeren 1,2-

TABELLE I

trans- UND *cis*-1-AMINO-2-HYDROXY-INDAN

Dioxan- Methanol	Borsäure- konzentration	R _F -Wert		Differenz
		<i>trans</i>	<i>cis</i>	
17:3	0	0.56	0.36	0.20
17:3	0.1-0.3	0.30	0.07	0.23
10:10	0	0.60	0.40	0.20
10:10	0.1-0.3	0.40	0.15	0.25
8:12	0.1-0.3	0.25	0.10	0.15

TABELLE II

erythro- UND *threo*-1,3-DIPHENYL-3-AMINO-PROPANOL-(I)

Dioxan- Methanol	Borsäure- konzentration	R _F -Wert		Differenz
		<i>erythro</i>	<i>threo</i>	
17:3	0.1	0.15	0.40	0.25
10:10	0.1	0.34	0.55	0.21
8:12	0.1	0.30	0.45	0.15

TABELLE III

erythro- UND *threo*-1,2-DIPHENYL-3-AMINO-PROPANOL-(I)

Dioxan- Methanol	Borsäure- konzentration	R _F -Wert		Differenz
		<i>erythro</i>	<i>threo</i>	
17:3	0.1-0.3	0.25	0.10	0.15
10:10	0.1-0.3	0.35	0.15	0.20
8:12	0.1-0.3	0.35	0.20	0.15
6:14	0.1-0.3	0.20	0.10	0.10

TABELLE IV

erythro- UND *threo*-1,2-DIPHENYL-2-AMINO-ÄTHANOL-(I)

Dioxan- Methanol	Borsäure- konzentration	R _F -Wert		Differenz
		<i>erythro</i>	<i>threo</i>	
17:3	0.1	0.60	0.45	0.15
10:10	0.1	0.50	0.40	0.10
8:12	0.1	0.50	0.40	0.10

TABELLE V

trans- UND *cis*-1-AMINO-2-HYDROXY-TETRALIN

Dioxan- Methanol	Borsäure- konzentration	<i>R_F</i> -Wert		Differenz
		<i>trans</i>	<i>cis</i>	
17:3	0	0.70	0.60	0.10
17:3	0.1-0.3	0.25	0.07	0.18
10:10	0	0.90	0.75	0.15
10:10	0.1-0.3	0.30	0.15	0.15
8:12	0.1-0.4	0.35	0.20	0.15
6:14	0.1-0.4	0.30	0.20	0.10

TABELLE VI

trans- UND *cis*-2-PHENYL-2-HYDROXY-1-AMINO-CYCLOHEXAN

Dioxan- Methanol	Borsäure- konzentration	<i>R_F</i> -Wert		Differenz
		<i>trans</i>	<i>cis</i>	
17:3	0.1-0.2	0.60	0.45	0.15
10:10	0.1	0.75	0.65	0.10
8:12	0.1	0.80	0.70	0.10
6:14	0.1	0.80	0.65	0.15

TABELLE VII

meso- UND DL-1,2-DIPHENYL-1,2-DIBROM-ÄTHAN

Laufmittel	Komplexbildner	<i>R_F</i> -Wert		Differenz
		<i>meso</i>	DL	
Heptan	0.1 N Borsäure	0.00	0.60	0.60
Heptan	0.1 N Borsäure	0.00	0.60	0.60
Heptan	0.1 M Harnstoff	0.00	0.64	0.64

TABELLE VIII

meso- UND DL-1,2-DIPHENYL-1,2-DINITRO-ÄTHAN

Laufmittel	Komplexbildner	<i>R_F</i> -Wert		Differenz
		<i>meso</i>	DL	
Heptan	0.1 N Borsäure	0.00	0.70	0.70
Heptan	0.1 M Harnstoff	0.00	0.70	0.70*

* Bei der DL-Form tritt Isomerisierung zum *meso*-Produkt auf.

Diphenyl-1,2-dichlor-äthane lassen sich unter diesen Versuchsbedingungen nicht trennen.

Experimenteller Teil

Als Adsorbens wird Kieselgel-D (VEB Chemiewerk Greiz-Dölau) verwendet. Die Glasplatten haben eine Abmessung von 10 × 20 cm. 7.5 g Kieselgel-D werden mit 15 ml Wasser verrührt und anschliessend mit einem Plaststreicher auf der Platte ausgezogen. Die Platte bleibt bis zum Verschwinden des Glanzes (ca. 15 Min.) an der Luft liegen und wird dann im Trockenschrank 50 Min. bei 110° aktiviert. Bei Einsatz von Borsäure oder Harnstoff als Komplexbildner wird an Stelle von Wasser Borsäure- oder Harnstofflösung der jeweiligen Konzentration verwendet. Nach dem Aktivieren werden die Platten in einem Exsikkator über Blaugel aufbewahrt.

Aufzutragende Mengen und Sichtbarmachung. Bei den Aminoalkoholen darf nur sehr wenig Substanz aufgebracht werden (~ 5 µg), da für die Sichtbarmachung mit Ninhydrin schon geringste Mengen genügen und sonst eine lästige Schwanzbildung auftritt. Bei Verwendung des Morgan-Elson-Reagenzes werden ~ 30 µg auf die Platte aufgetragen.

Dichlorstilben, Dibromstilben und Dinitrostilben werden mit Chromschwefelsäure sichtbar gemacht. Dazu müssen ungefähr 50 µg aufgetragen werden.

Ninhydrin. 0.3 g/100 ml abs. Äthanol. Das Laufmittel wird nach der Entwicklung abgedampft, die Platte anschliessend mit Ninhydrin besprüht und für *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-indan, *trans*- und *cis*-1-Amino-2-hydroxy-tetralin und *trans*- und *cis*-2-Phenyl-2-hydroxy-1-amino-cyclohexan ca. 10 Min. auf 120° erhitzt. Bei den restlichen Aminoalkoholen wird für 1 Std. auf 120° erhitzt.

*Morgan-Elson-Reagenz*⁸. Sprühlösung (1) 0.5 ml einer Mischung aus 5 ml 50% wässriger KOH und 20 ml Äthanol werden unmittelbar vor Gebrauch mit 10 ml einer Mischung aus 0.5 ml Acetylaceton und 50 ml *n*-Butanol zusammengegeben.

Sprühlösung (2): 1 g *p*-Dimethylaminobenzaldehyd wird in 30 ml Äthanol gelöst. Die Lösung wird mit 30 ml konz. HCl versetzt. Bei Bedarf wird mit 180 ml *n*-Butanol verdünnt.

Vorgang: Nach Besprühen mit (1) 5 Min. auf 105° erwärmen, mit (2) nachsprühen und 5 Min. bei 90° trocknen.

Institut für Organische Chemie und Biochemie,
Friedrich-Schiller-Universität, Jena (D.D.R.)

GÜNTHER DREFAHL
GÜNTHER HEUBLEIN
KARL SILBERMANN

1 S. HERMANEK, V. SCHWARZ UND Z. CEKAN, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 28 (1963) 2031.

2 G. DREFAHL UND G. HEUBLEIN, *Chem. Ber.*, 94 (1961) 915, 922.

3 E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie*, Springer Verlag, Berlin, 1962, S. 185, 476.

4 G. PASTUSKA, *Z. Anal. Chem.*, 179 (1961) 427.

5 L. J. MORRIS, *Chem. Ind. (London)*, (1962) 1238.

6 L. J. MORRIS, *Lab. Pract.*, 13 (1964) 284.

7 H. U. MANGOLD, H. SCHMID UND E. STAHL, *Methods Biochem. Anal.*, 12 (1964) 379.

8 E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie*, Springer Verlag, Berlin, 1962, S. 502.

Eingegangen den 17. November 1965