

Notes

CHROM. 3731

Über einen neuen kontrastfähigen Fluoreszenzindikator für die Dünnschichtchromatographie der Lipide

Zur Sichtbarmachung der Flecken von Lipidgemischen sind bei der Dünnschichtchromatographie zahlreiche Fluoreszenzindikatoren in Gebrauch: Rhodamin B, Fluorescein, Dichlorfluorescein u.a. Ihnen haftet der gemeinsame Mangel an, dass sie die Flecken nicht scharf genug hervorstechen lassen und infolgedessen keine brauchbaren, d.h. scharf umrissenen, schwarz-weißen oder gar farbigen Bilder liefern können. Wir prüften unterschiedliche im U.V.-Licht fluoreszierende chemische Verbindungen, die bislang als Indikatoren in der Dünnschichtchromatographie nicht eingesetzt wurden, und stellten hierbei fest, dass einige Diaminostilbentriazin- und Diphenylpyrazolin-Derivate, die in der Textilindustrie als optische Aufheller Verwendung finden, sich für unseren Zweck am besten eignen.

Experimenteller Teil

Zur Untersuchung gelangten nachstehende optische Aufheller der Firma Geigy (Basel) unter der Handelsbezeichnung Tinopal: RBS, GS, CWS, TAS, LCS, 4BMS und CH 3566.

Die Voruntersuchungen zur Feststellung des nachweisbaren Minimums an Lipiden ergaben, dass bei den Tinopalen RBS, GS, CWS und TAS die Flecken nicht scharf genug zum Fond kontrastieren oder dass ihre Empfindlichkeit über 10 γ Substanz liegt. Aus diesem Grunde mussten sie aus den weiteren Untersuchungen ausscheiden, die wir dann mit LCS und 4BMS (Diaminostilbentriazin-Derivate) sowie mit CH 3566 (Diphenylpyrazolin-Derivat) durchführen. Wir benützten die Tinopalen als 0.5 %-ige alkoholische Lösungen.

Das Chromatogramm eines Lipidgemisches mit der Zusammensetzung 4 γ *n*-Oktadekan, 6 γ Tristearat, 3 γ Stearinsäure, 2 γ Palmitinalkohol und 2 γ Phytosterole in jedem Auftragspunkt ist in Fig. 1 dargestellt. Die Flecke machten wir im U.V.-Licht mit folgenden Indikatoren sichtbar: (1) Tinopal LCS, (2) Tinopal CH 3566, (3) Dichlorfluorescein, (4) Fluorescein und (5) Rhodamin B.

Offensichtlich ist die Empfindlichkeit des Fluoresceins als Indikator für Lipide sehr geringfügig, während die des Rhodamins B über 3 γ Substanz liegt. Analoge Versuche, doch mit kleineren Mengen des Lipidgemisches, ergaben, dass die gerade noch nachweisbare Menge an Lipiden für das Dichlorfluorescein, für CH 3566 und LCS bei 1.5 bis 3.0 γ liegt.

In Anlehnung an die Versuche von JONES und Mitarb.¹, nach denen der Zusatz von Rhodamin B zum Dichlorfluorescein dessen Empfindlichkeit weitgehend steigert, stellten wir eine Reihe von Versuchen mit Zusatz von Rhodamin B zu Tinopalen an. In Fig. 2 ist das gleiche Lipidgemisch wie in Fig. 1, doch in einer um die Hälfte ver-

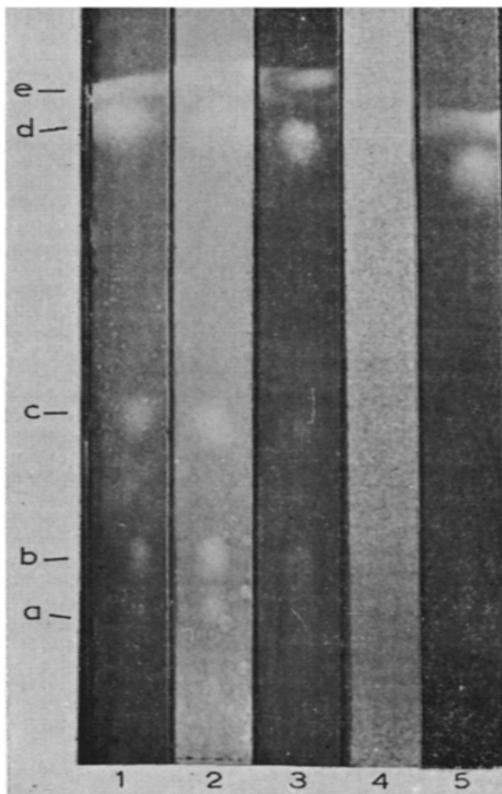


Fig. 1. Chromatogramm eines Lipidgemisches. Adsorbent: Silicagel + 16% Gips. Laufmittel: Hexan-Aceton (9:1). a = Phytosterole; b = Palmitinalkohol; c = Stearinsäure; d = Tri-stearat; e = Oktadekan. 1-5, Sichtbarmachung, s. Text.

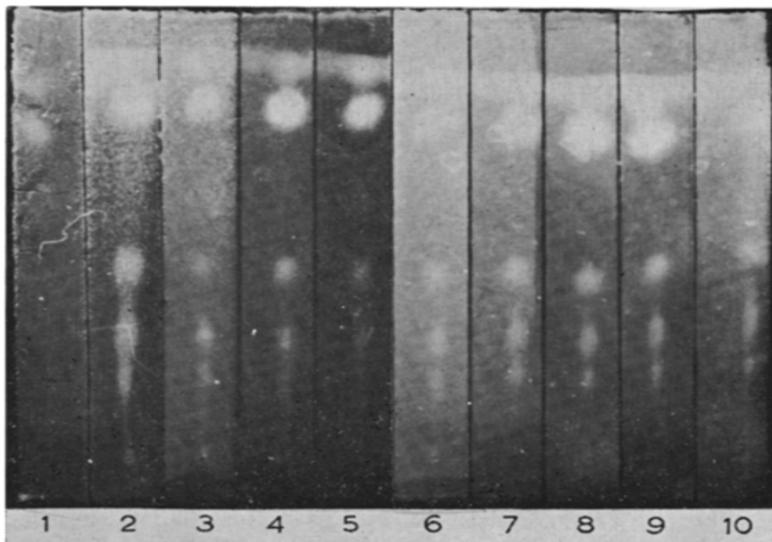


Fig. 2. Chromatogramm des gleichen Lipidgemisches unter denselben Voraussetzungen wie in Fig. 1, doch sind die Flecken gefärbt mit: Dichlorfluorescein (1); 0.5%iger Lösung von CH 3566 mit Zusatz von Rhodamin B, 20 mg/g (2), 10 mg/g (3), 30 mg/g (4); 0.5%iger Lösung von 4 BMS mit Rhodamin B-Zusatz, 30 mg/g (5), 10 mg/g (6), 20 mg/g (7); 5%iger Lösung von LCS mit Rhodamin B-Zusatz, 10 mg/g (8), 30 mg/g (9) und 20 mg/g (10).

ringerten Menge, chromatographiert. Das Fließmittel ist in beiden Fällen dasselbe.

Der Zusatz von Rhodamin B zum jeweiligen Fluoreszenzindikator lässt, wie ersichtlich, die Flecken schärfer vom Fond hervorstechen. Das nachweisbare Minimum an Lipiden beträgt 0.5 bis 1.0 μ . Die Menge des zugesetzten Rhodamins B kann innerhalb der Grenzen 15 bis 40 mg je 1 g Fluoreszenzindikator schwanken, ohne dass der scharfe Kontrast der Flecken zum Fond beeinträchtigt wird. Werden diese Grenzen jedoch über- bzw. unterschritten, so bewirkt das eine wesentliche Einschränkung der Indikatorempfindlichkeit.

*Institut für organische Chemie der
Bulgarischen Akademie der Wissenschaften,
Sofia (Bulgarien)*

ASSEN D. POPOV
KAMEN L. STEFANOV

I. D. JONES, D. E. BOWYER, G. A. GRESHAM AND A. N. HOWARD, *J. Chromatog.*, 23 (1966) 172.

Eingegangen am 5. August 1968

J. Chromatog., 37 (1968) 533-535

CHROM. 3699

Thin layer chromatographic studies on some new nitrophenothiazines

Phenothiazines have been used extensively in medicine and industry as anti-helmintics, antihistamines, dyes and antioxidants. The rapid separation and identification of nuclear substituted phenothiazines thus merits further investigation.

Although a number of references deal with the thin layer chromatographic separation of 10-substituted phenothiazines¹⁻⁸, there is no report in the literature with regard to the thin layer chromatography of nitrophenothiazines. In the present investigation we successfully applied this technique to the qualitative analysis of a number of nitrophenothiazines and nitrodiphenyl sulphides. Various solvent systems have been established that permit the detection and differentiation of these compounds.

The U.V. absorption maxima of the compounds are also reported, which may be of interest in their characterisation.

Nitrophenothiazines and diphenyl sulphides were obtained by treatment of reactive halogenonitro compounds with substituted *o*-aminothiophenols under alkaline conditions. Halogenonitrobenzenes having both positions *ortho* to the activated halogen atom substituted either by two nitro groups or by one nitro group and one halogen atom, provided the nitrophenothiazines directly. On the other hand, halogenonitrobenzenes having only one nitro group *ortho* to the activated halogen atom provided the diphenyl sulphides, which on formylation followed by SMILES rearrangement gave the respective nitrophenothiazines.

The plates (25 mm \times 25 mm) were coated with Silica Gel G (10% CaSO₄), and dried and activated in the usual manner.

J. Chromatog., 37 (1968) 535-537