

CHROM. 4054

Zur Dünnschichtchromatographie von Cardenolid-Derivaten und ihren Acetaten

Zur dünnschichtchromatographischen Analyse von Cardenoliden und Cardenolidglykosiden an Kieselgel G¹⁻⁴ sind diverse Systeme und Nachweisreaktionen bekannt. Einen Überblick geben Lit. 1-9.

Im folgenden wird über die dünnschichtchromatographische Trennung der Acetate von Vertretern der A-, B- und C-Reihe und einiger ihrer Abbauprodukte berichtet, sowie auf die Möglichkeit einer systematischen DC-Analyse von Geninen und Glykosiden der wesentlichsten Cardenolidtypen eingegangen. Letztere basiert, in Verbindung mit entsprechend differenzierten Nachweisreaktionen^{10,11}, auf der komplexen Anwendung mehrerer, in ihrer qualitativen Zusammensetzung z. T. bekannter DC-Systeme^{12,13}.

DC von Cardenolidacetaten

Eine Trennung der stark lipophilen Acetyl-Derivate gelingt befriedigend mit Äther als Fliessmittel. Die Entwicklungszeiten dieses sehr einfachen Systems betragen nur 20-25 Min./15 cm Laufstrecke. Unter dem Gesichtspunkt einer Kombination mit quantitativen Verfahren¹⁴ erweist sich die konzentrierte Abscheidung und Lokalisierung der Substratflecken mit R_F -Werten von < 0.8 (Tabelle I) als vorteilhaft. Die

TABELLE I

DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE VON CARDENOLIDACETATEN
Kieselgel G/Äther ($s_{rel.} \pm 4.2\%$).

Verbindung	hR_F
Digitoxigenin	15
Digitoxigenin-3-acetat	35
Δ^{10} -Digitoxigenin-3-acetat	13
Digitoxigenin-ketotriol-diacetat	72
Digitoxin-tetraacetat	22
Digitoxin-ketolacetat ^a	43
Δ^{10} -Digitoxin-tetraacetat	7
Digoxin-pentaacetat	10
Digoxin-ketolacetat	33
Gitoxigenin-3,16-diacetat	23
Gitoxin-pentaacetat	15

^a 21-Acetoxy-14-hydroxy-20-oxo-5 β ,14 β ,17a-H-pregnan-3 β -D-tridigitoxosyltetraacetat.

prozentuale Standardabweichung der Einzelwerte beträgt $s_{rel.} \pm 4.2\%$ ($n = 5$; Laufstrecke 15 cm)*. Sehr kurze Laufstrecken ("micro-slides", 5 cm) reduzieren die Entwicklungszeiten auf 3-4 Min. (Erhöhung der Abweichungen um den Faktor 3) und erlauben damit in einfacher Form die kurzfristige Analyse laufender synthetischer Prozesse. Innerhalb der in Tabelle I aufgeführten Beispiele gilt dies besonders für die

$$* s = \pm \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Synthese und Differenzierung der Glykosidacetate von ihren entsprechenden Isopregnanolon-tridigitoxosidacetaten^{10,11} und Δ^{16} -Derivaten.

Komplexe DC-Analyse von Cardenolid-Derivaten

Eine komplexe DC-Analyse von Cardenoliden und Cardenolidglykosiden der Digitoxigenin-, Digoxigenin-, Gitoxigenin-, *k*- und *g*-Strophanthidin-Reihe sowie ihrer Acetate kann mit den folgenden, in ihrem polaren Charakter entsprechend abgestuften Lösungsmittelsystemen vorgenommen werden:

System 1: Äther ($s_{rel.} \pm 4.2\%$)

System 2: Cyclohexan-Äthylacetat (1:2) ($s_{rel.} \pm 2.8\%$)

System 3: Diisopropyläther-Methanol (85:15) ($s_{rel.} \pm 4.1\%$)

System 4: Äthylacetat-Methanol (9:1) ($s_{rel.} \pm 2.7\%$)

System 5: Äthylacetat-Methanol (7:3) ($s_{rel.} \pm 2.1\%$).

Während die Systeme 1–3 die Trennung ausgeprägt lipophiler Cardenolid-Derivate und ihrer Acetate ermöglichen, eignen sich die Systeme 3–5 zur Differenzierung von Verbindungen mit stärker polarem Charakter (Trihydroxycardenolide, sekundäre Glykoside, Lanatoside). Eine Trennung des Digitoxins und Digoxins von ihren 20,22-Dihydroverbindungen ist auf diesem Wege nicht möglich¹⁵. *k*-Strophanthidin-Derivate sowie Desacetyl-Lanatoside werden mit den Systemen 4 und 5 und Verbindungen der *g*-Strophanthidin-Reihe mit System 5 erfasst.

Nachweisreaktionen

Dem differenzierten Nachweis struktureller Charakteristika dienen *m*-Dinitrobenzol (Lit. 16; Butenolidring), Xanthydrol (Lit. 17; Digitoxoside), Trichloressigsäure-Chloramin (Lit. 18; Differenzierung 17 α -H/17 β -H—A-Reihe) und Triphenyltetrazoliumchlorid (Ketol-Gruppierungen). Der summarische Nachweis der A, B- und C-Reihe erfolgt mit Antimontrichlorid¹⁹ und der der *g*- und *k*-Strophanthidin-Derivate mit Chlorsulfonsäure²⁰. Die unteren Erfassungsgrenzen der genannten Verfahren liegen zwischen 0.05–0.5 μ g.

Methodik

Die Schichtdicke der in üblicher Weise mit einem Streichgerät¹⁵ auf 10 \times 20 cm grossen Glasplatten hergestellten Kieselgel G Schichten (Merck AG) betrug nach ihrer Trocknung (60 Min., 110°) 250 μ m \pm 5% (Lit. 21). Die Chromatographie erfolgte aufsteigend (Kammersättigung) bei 20 \pm 2°. Die Entwicklungszeiten lagen bei Laufstrecken von 15 cm für Äther bei 20–25 und für die Systeme 2–5 bei 45 Min. Nachweisreaktionen mit Chlorsulfonsäure nach TSCHESCHE *et al.*²⁰ und Trichloressigsäure-Chloramin nach KAISER¹⁸.

Antimontrichlorid. 15%ige Lösung in Chloroform; nach Spray 2 Min. Trocknung bei 110°.

m-Dinitrobenzol. (a) *m*-DNB, 5%ige Lösung in Benzol; (b) NaOH, 10%ig in 60%igem Methanol; nach Spray von (a) Trocknung 2 Min. bei 100°; nach Abkühlung Spray von (b).

Xanthydrol. (a) Xanthydrol, 0.1%ig in Äther; (b) Eisessig-konz. Salzsäure (1:3); nach Spray von (a) Trocknung bei 120° und sofort Spray von (b). Anschliessend eventuell nochmalige Aufheizung der Platte bis zur maximalen Ausbildung der Farbflecken.

Triphenyltetrazoliumchlorid. (a) TTC, 1%ig in Wasser; (b) NaOH, 10%ig in 60%igem Methanol; Spray mit Mischung von (a) und (b) (1:3).

*Institut für Kreislaufforschung der Deutschen
Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Lindenberger Weg 70, 1115 Berlin-Buch (D.D.R.)*

G. RABITZSCH
S. JÜNGLING

- 1 E. STAHL, *Chemiker-Ztg.*, 82 (1958) 323.
- 2 E. STAHL, *Angew. Chem.*, 73 (1961) 646.
- 3 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2. Aufl., 1967, S. 330.
- 4 E. STAHL UND U. KALTENBACH, *J. Chromatog.*, 5 (1961) 458.
- 5 A. HÁZNAGY, K. SZENDREI UND L. TÓTH, *Pharmazie*, 20 (1965) 541.
- 6 J. P. COMER UND I. COMER, *J. Pharm. Sci.*, 56 (1967) 413.
- 7 B. GÖRLICH, *Arzneimittelforsch.*, 10 (1960) 770; *ibid.*, 15 (1965) 493.
- 8 B. GÖRLICH, *Planta Med.*, 9 (1961) 442.
- 9 E. J. JOHNSTON UND A. L. JACOBS, *J. Pharm. Sci.*, 55 (1966) 531.
- 10 G. RABITZSCH, *Naturwissenschaften*, 50 (1963) 225.
- 11 G. RABITZSCH, *Advan. Tracer Methodol.*, 3 (1966) 31.
- 12 M. BARBIER, H. JÄGER, H. TOBIAS UND E. WYSS, *Helv. Chim. Acta*, 42 (1959) 2440.
- 13 G. RABITZSCH UND H. HERZMANN, *Ann. Chem.*, 685 (1965) 261.
- 14 G. RABITZSCH UND S. JÜNGLING, *J. Chromatog.*, 41 (1969) 96.
- 15 G. RABITZSCH, *J. Chromatog.*, 35 (1968) 122.
- 16 W. D. RAYMOND, *Analyst*, 64 (1939) 113.
- 17 M. PESEZ, *Ann. Pharm. Franc.*, 10 (1952) 104.
- 18 F. KAISER, *Chem. Ber.*, 88 (1955) 556.
- 19 D. LAWDAY, *Nature*, 170 (1952) 415.
- 20 R. TSCHESCHE, W. FREYTAG UND G. SNATZKE, *Chem. Ber.*, 92 (1959) 3053.
- 21 G. RABITZSCH, *J. Chromatog.*, 37 (1968) 350.

Eingegangen am 25. Februar 1969

J. Chromatog., 42 (1969) 146-148

CHROM. 4080

The separation of gangliosides by glass fiber chromatography

Owing to the close similarity of the various gangliosides which in the past few years have been identified and isolated from various types of brain tissue, most investigators in the field have leaned heavily on chromatography and allied techniques.

Column and ion exchange chromatography have been used but have not been very successful except in the preliminary fractionation¹. Counter current distribution methods², while adequate, require elaborate equipment; hence, most workers have used thin-layer chromatography (TLC), which has been employed both for analytical and preparative purposes¹.

This method has some disadvantages and we have accordingly utilized instant thin-layer chromatography (ITLC) on glass fiber. Though this technique has been applied extensively to both the carbohydrate and lipid field in recent years³, it has not, thus far, been used in the ganglioside field. Advantages consist of increased speed of separation and increased sensitivity as compared to conventional TLC.

J. Chromatog., 42 (1969) 148-151