

CHROM. 9985

Note

Dünnschichtchromatographische Spaltung der Racemate einiger Aminosäuren

KARL BACH und HERMANN JOSEF HAAS

Fachbereich 3 der Universität des Saarlandes, Fachrichtung Physiologische Chemie, D-6650 Homburg/Saar (B.R.D.)

(Eingegangen am 22. Dezember 1976)

Papierchromatographische Auftrennungen racemischer α -Aminosäuren wurden verhältnismässig häufig beschrieben¹. Auch die Racemate einiger Diaminocarbonsäuren wurden papierchromatographisch gespalten².

Dünnschichtchromatographisch wurden bisher nur die Racemate von Tryptophan, 5- und 6-Hydroxytryptophan³ sowie von α,δ -Diaminoadipinsäure und α,ϵ -Diaminopimelinsäure⁴ aufgetrennt, wobei Cellulose als stationäre Phase und *n*-Butanol-Pyridin-Wasser (1:1:1) bzw. Methanol-Wasser-Essigsäure (40:10:2) als mobile Phase dienten. Wir haben versucht, die Racemate weiterer Aminosäuren dünn-schichtchromatographisch aufzutrennen.

MATERIAL UND METHODIK

Dünnschichtfolien

Am besten eigneten sich DC-Alufolien Cellulose F₂₅₄, Schichtdicke 0.1 mm (E. Merck, Darmstadt, B.R.D.).

Entwicklung

Aufgetragen wurden 3 μ g der sulfonierten Aminosäuren (Tabelle I, Nr. 2, 7 und 8), von den übrigen Aminosäuren jeweils 0.5–1 μ g. Als mobile Phase diente eines der Laufmittel A bis F: A, Methanol p.a.-Wasser (3:1); B, Methanol p.a.-Wasser (7:3); C, Methanol p.a.-Wasser (3:2); D, Methanol p.a.-Wasser (1:1); E, *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (1:1:1); F, Äthanol abs.-Wasser (4:1). Laufstrecke: 15 cm.

Sprühreagenz

Als Sprühreagenz wurde 0.3 g Ninhydrin in 100 ml *n*-Butanol + 3 ml Eisessig verwendet⁵.

Detektion

Die getrockneten Folien wurden besprüht und ca. 5 min auf 110° erhitzt. Tryptophan, 5-Hydroxytryptophan und β -Benzoyl- α -alanin waren auch aufgrund

von Fluoreszenzlöschung (254 nm), Kynurenin war auch durch Eigenfluoreszenz (366 nm) erkennbar.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse gehen aus Tabelle I hervor. Während es uns bisher nicht gelang, D,L-Phenylalanin dünn-schichtchromatographisch aufzutrennen, haben die D- und die L-Formen einiger Derivate deutlich unterschiedliche R_F -Werte, wobei die L-Formen langsamer als die D-Formen wandern. Besonders gute Trennungen sind im Falle der *p*-Tyrosin-3-sulfonsäure erreichbar. Von *o*- und *m*-Tyrosin standen nur die Racemate zur Verfügung, wir vermuten, dass, wie bei *p*-Tyrosin, die D-Formen schneller als die L-Formen wandern. Auch D,L- β -Phenylserin war bisher nicht auf-trennbar, jedoch ergibt D,L-*threo*- β -(3,4-Dihydroxyphenyl)-serin zwei Flecke. Da die reinen Enantiomeren nicht zur Verfügung standen, können wir noch keine sichere Zuordnung der beiden Flecke vornehmen. Der gleiche Vorbehalt gilt für die Auf-trennungen von D,L- β -Benzoyl- α -alanin und D,L- α,ϵ -Diaminopimelinsäure. Letztere ergibt drei Flecke, weil das uns zugängliche käufliche Präparat auch die *meso*-Form enthielt. Auch die Racemate von Tryptophan und 5-Hydroxytryptophan sind trenn-bar, wobei auch in diesen Fällen den D-Formen die grösseren R_F -Werte zukommen. D,L-Kynurenin ist ebenfalls aufzutrennen, allerdings läuft bei dieser Aminosäure die D-Form langsamer als das L-Enantiomere. Wegen der strukturellen Verwandtschaft mit Kynurenin ist denkbar, dass auch im Falle des β -Benzoyl- α -alanins der D-Form der kleinere R_F -Wert zuzuschreiben ist. Die geschilderten dünn-schichtchromato-graphischen Auftrennungen haben im Vergleich zu papierchromatographischen Methoden den Vorteil, dass man mit wesentlich kürzeren Laufzeiten, ohne Durch-laufchromatographie sowie in der Regel ohne Mehrfachentwicklungen auskommt. Al-

TABELLE I
 R_F -WERTE EINIGER D,L-AMINOSÄUREN

Aminosäure	Laufmittel	Laufzeit (min)	$R_F \times 100$			$R_F(L)$ $R_F(D)$
			D	D,L	L	
<i>p</i> -Amino-phenylalanin	A	110	45, 40		40	
Phenylalanin-4-sulfonsäure	E*	270	74	73, 70	71	0.96
<i>o</i> -Tyrosin	B	130		61, 57		
<i>m</i> -Tyrosin	B	130		59, 55		
<i>p</i> -Tyrosin	B*	130	83	83, 81	81	0.97
3,4-Dihydroxy-phenylalanin	C	145	57	57, 53	53	0.93
<i>p</i> -Tyrosin-3-sulfonsäure	B	130	73	73, 63	63	0.86
<i>p</i> -Tyrosin-3-sulfonsäure	E	285	44	44, 30	30	0.68
<i>threo</i> - β -(3,4-Dihydroxy-phenyl)-serin	D*	155		67, 65**		
Tryptophan	C	145	52	52, 46	46	0.88
5-Hydroxytryptophan	C	145	41	41, 34	34	0.83
β -Benzoyl- α -alanin	F*	195		59, 62**		
Kynurenin	C	145		38, 47	47	
α,ϵ -Diaminopimelinsäure	B*	130		45, 39, 34**		

* Doppelentwicklung.

** R_F -Werte nicht sicher der D- bzw. L- bzw. *meso*-Form zuzuordnen.

lerdings gelang es bisher nicht, D,L-Histidin, das papierchromatographisch aufzutrennen ist¹, durch Dünnschichtchromatographie in die Antipoden zu spalten. An der α -Aminogruppe beispielsweise durch eine Dansyl- oder eine Carbobenzoygruppe substituierte D,L-Aminosäuren sind weder papierchromatographisch¹ noch dünnschichtchromatographisch spaltbar.

DANK

Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für eine Sachbeihilfe.

LITERATUR

- 1 R. Weichert, *Ark. Kemi*, 31 (1970) 517; dort weitere Literatur.
- 2 C. L. de Ligny, H. Nieboer, J. J. M. de Vijlder and J. H. H. G. van Willigen, *Rec. Trav. Chim.*, 82 (1963) 213; dort weitere Literatur.
- 3 S. F. Contractor and J. Wragg, *Nature (London)*, 208 (1965) 71.
- 4 A. Chimiak and J. Połowski, *J. Chromatogr.*, 115 (1975) 635.
- 5 *Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papierchromatographie*, E. Merck, Darmstadt, 1970, S. 75, Nr. 231 A.