

CHROM. 13,339

Note

Untersuchung von Faktoren, die das dünn-schichtchromatographische Verhalten der Stoffe beeinflussen

III. Dünn-schichtchromatographie von Fluorescein auf pH-Gradient-Schichten*

Lj. KRAUS* und El. STAHL

Lehrstuhl für Pharmakognosie der Universität Hamburg, Bundesstrasse 43, D-2000 Hamburg 13 (B.R.D.)

(Eingegangen am 3. Juli 1980)

Fluorescein [Resorcinphthalein, 9-(2-Carboxyphenyl)-6-hydroxy-3(3H)-xanthenen] wird als Indikator, oder zur Herstellung von anderen Farbstoffen, die man z.B. als Diagnostika verwendet (Eosin, Erythrosin, Bengalrosa), eingesetzt. Zur Überprüfung der Reinheit empfehlen Schorn und Stahl¹ bzw. Stier und Specht² das Fließmittel *n*-Propanol-Ameisensäure (80:20). Die Substanz zeigt einen einheitlichen Fleck bei hR_F -Wert = 74.

TABELLE I

FLIESSMITTEL ZUR DÜNN-SCHICHTCHROMATOGRAPHIE VON SAUREN FARBSTOFFEN AUF KIESELGELSCHICHTEN

No.	Fließmittel	Lit.
1	Äthanol (95%)	8
2	<i>n</i> -Butanol-Essigsäure-Wasser (20:10:50)	9, 10
3	<i>n</i> -Butanol-Äthanol-Wasser-Essigsäure (60:10:20:0.5)	11
4	Chloroform-Essigsäure (90:10)	12
5	Benzol-Essigsäure (90:10)	12
6	Toluol-Essigsäure (65:35)	13
7	Benzol-Propionsäure (80:20)	11
8	Benzol-Chloroform-Propionsäure (40:40:20)	11
9	Benzol-Isopropanol-Essigsäure (60:40:1)	11
10	Äthylacetat-Pyridin-Wasser (60:30:10)	11
11	Amylalkohol-Äthanol-konz. Ammoniak (50:45:5)	11
12	<i>n</i> -Butanol-Äthanol-konz. Ammoniak-Pyridin (40:10:30:20)	14
13	<i>n</i> -Butylacetat-Pyridin-Wasser (40:40:20)*	11
14	<i>n</i> -Butylacetat-Pyridin-Wasser (30:45:25)**	15

* Oder Cellulose.

** Kieselgel bzw. Aluminiumoxid G + 2.5% Na₂CO₃.

Neben diesem Fließmittel gibt es eine ganze Reihe von Fließmitteln (saure, alkalische, neutrale), die verwendet werden (Tabelle I). An Hand unserer früheren Erfahrungen mit pH-Gradient-Schichten bei der Trennung von Xanthin-Derivaten^{3,4}, Phenothiazinen^{5,6} und Indolcarbonsäuren⁷ haben wir versucht, diese Methoden zur Reinheitsprüfung einzusetzen.

* 4. Mitt.: Deut. Apoth.-Z., 120 (1980) 2349-2350.

EXPERIMENTELLES

Zweihundert μl einer frisch zubereiteten 0.01% äthanolischen Lösung des Fluoresceins (Geigy, Basel, Schweiz) wurden mit einem Mikrodoser (Desaga, Heidelberg, B.R.D.) auf die Gesamtbreite von 18 cm aufgetragen.

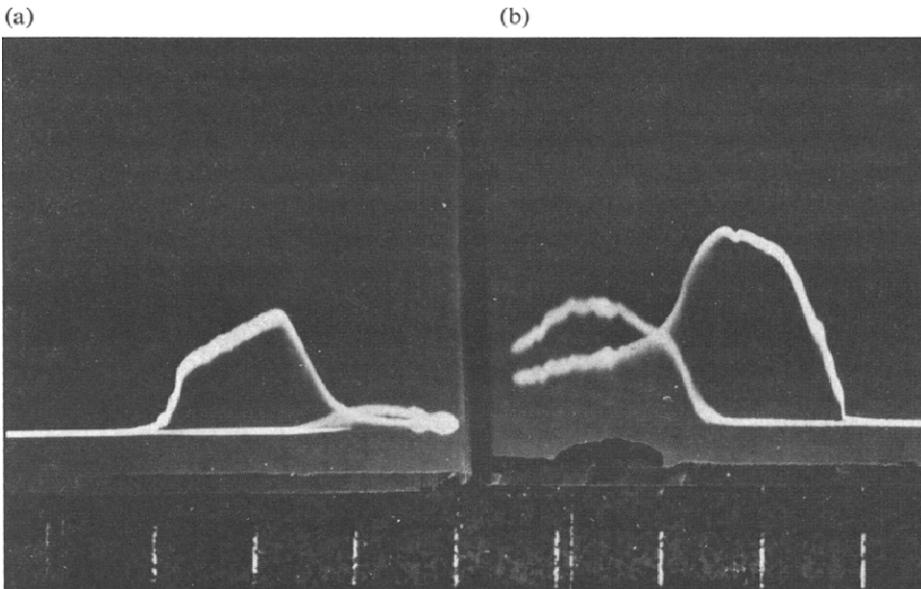


Fig. 1. Trennung des Fluoresceins auf einer pH-Gradient-Schicht. Fließmittel: (a) Chloroform-96% Äthanol (95:5); (b) Chloroform-96% Äthanol (90:10).

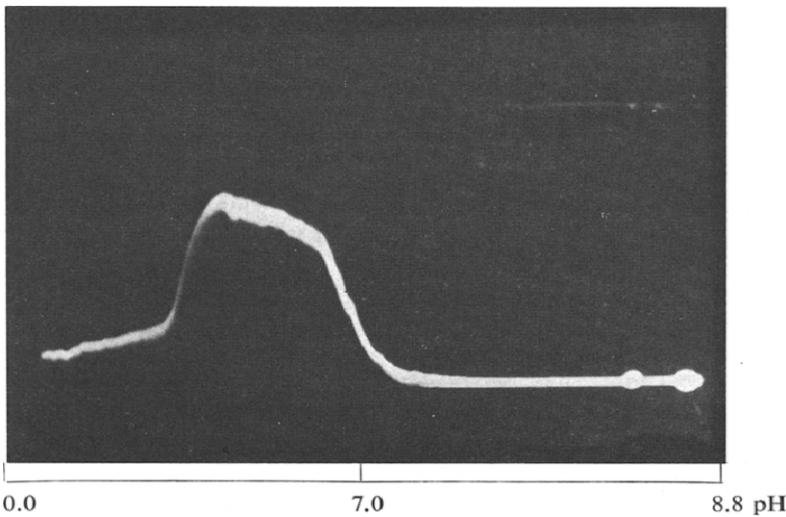


Fig. 2. Trennung eines chromatographisch vorgereinigten Fluoresceins auf einer pH-Gradient-Schicht. Fließmittel: Chloroform-96% Äthanol (90:10).

Dünnschichtchromatographie

Stationäre Phase: pH-Gradient-Schicht; Mobile Phase: Chloroform-96% Äthanol (95:5) (Fig. 1a), Chloroform-96% Äthanol (90:10) (Fig. 1b); Nachweis: (a) UV₃₆₀, (b) besprühen mit alkoholischer 10% NaOH-Lösung.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Wie den Abbildungen zu entnehmen ist, ist das Fluorescein nicht einheitlich. Nach dem Besprühen mit einer Alkalihydroxid-Lösung bekamen wir für Fluorescein eine leuchtend grüne Fluoreszenz. Um festzustellen, ob die Zersetzung auf der Platte während des Chromatographierens stattgefunden hat, chromatographierten wir die Fluoresceinlösung auf einer konventionellen Platte. Die Zone des Fluoresceins schabten wir aus, eluierten und die so gewonnene Fluoresceinlösung trugen wir erneut auf die Gradient-Schicht (Fig. 2). Auf diese Weise konnten wir nachweisen, dass die Bildung des Nebenproduktes nicht während des Chromatographierens stattfand, sondern im Ausgangsprodukt vorhanden war.

DANK

Frau Richter danken wir für die technische Hilfe.

LITERATUR

- 1 P. J. Schorn und E. Stahl, *Dünnschichtchromatographie-Laboratoriumshandbuch* Springer, Berlin, Heidelberg, 1967, S. 590, Unveröffentlichte Versuche.
- 2 A. Stier und W. Specht, *Naturwissenschaften*, 50 (1963) 549.
- 3 Lj. Kraus und E. Dumont, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 96-105.
- 4 Lj. Kraus und E. Dumont, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 106-112.
- 5 Lj. Kraus und E. Dumont, *Z. Anal. Chem.*, 252 (1970) 380.
- 6 Lj. Kraus und E. Dumont, *J. Chromatogr.*, 56 (1971) 159-162.
- 7 Lj. Kraus und H. Kaldewey, *Farmaceuttinen Aikakauslehti*, 1s (1973) 14.
- 8 L. F. Druding, *J. Chem. Educ.*, 40 (1963) 536.
- 9 S. Logar, J. Perkavec und M. Perpar, *Mikrochim. Acta*, (1964) 712.
- 10 J. Perkavec und M. Perpar, *Kem. Ind. (Zagreb)*, 12 (1963) 829.
- 11 G. H. Rettie und C. G. Haynes, *J. Soc. Dyers Colour.*, 80 (1964) 629.
- 12 K. C. Walker und M. Beroza, *J. Ass. Offic. Agr. Chem.*, 46 (1963) 250.
- 13 M. B. Naff und A. S. Naff, *J. Chem. Educ.*, 40 (1963) 534.
- 14 J. C. Brown, *J. Soc. Dyers Colour.*, 80 (1964) 185.
- 15 L. Meckel, H. Milster und U. Krause, *Textil-Praxis*, 16 (1961) 1032.