

# Über das Verhalten analoger Verbindungen bei der Chromatographie, 1. Mitt.

Von

**O. Hromatka und W. A. Aue**

Aus der Abteilung für Technische Chemie am Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 20. Februar 1962)

Bei Verbindungen, die sich bei gleichbleibender Konstitution nur durch die Anzahl gleicher funktioneller Gruppen unterscheiden, wurde für die Dünnschichtchromatographie eine lineare Abhängigkeit zwischen den  $R_f$ -Werten und der Anzahl der funktionellen Gruppen festgestellt. Ähnliche Verhältnisse scheinen auch für die Papierchromatographie zu gelten.

Bei einer Untersuchung über die Oxydation von Carotinoiden hatten wir zur Trennung der Oxydationsprodukte die Dünnschichtchromatographie nach *Stahl* herangezogen. Auf das Problem der Oxydation selbst wollen wir in dieser Arbeit nicht eingehen.

Je nach den Oxydationsbedingungen und dem zur Dünnschichtchromatographie verwendeten Lösungsmittelgemisch erhielten wir auf den mit „Kieselgel G für die Dünnschichtchromatographie“ hergestellten Platten eine mehr oder weniger große Anzahl von Farbflecken, die sich selbstverständlich je nach der Ausbeute an den einzelnen Produkten in ihrer Intensität, aber auch in ihrem Farbton voneinander unterschieden. Im wesentlichen wurden Flecken von orangegelber und solche von roter Farbe erhalten.

Wir bestimmten zunächst die  $R_f$ -Werte der bei der Oxydation von  $\beta$ -Carotin auftretenden orangegelben Flecken, von denen wir zwei durch Isolierung, Schmelzpunkt, Mikroanalyse und Absorption im sichtbaren Licht und im Infrarot als Isozeaxanthin und Isocryptoxanthin identifiziert hatten.

Als wir nun die Logarithmen der gemessenen  $R_f$ -Werte auf der Abszisse vorerst willkürlich gegen die Anzahl der OH-Gruppen als Ordinate auftrugen — was nahelag, da Isocryptoxanthin eine OH-Gruppe, Isozeaxanthin deren zwei enthält — lagen die  $\log R_f$ -Werte der orangefelben Flecken auf einer Geraden, während die Werte der roten Flecken außerhalb lagen. Als Beispiel bringen wir in Abb. 1 die in dieser Weise aufgetragenen Werte für die orangefelben Flecken eines Chromatogramms, das mit dem Lösungsmittelgemisch absol. Äther:absol. Benzol (3:1) entwickelt worden war.



Abb. 1

Wir weisen in diesem Zusammenhang darauf hin, daß wir zwar eine Abhängigkeit der eben geschilderten Art in jedem unserer Chromatogramme finden konnten, daß aber die  $R_f$ -Werte der gleichen Substanz bei Vergleich verschiedener Chromatogramme voneinander abwichen. Dies liegt — abgesehen von Qualitätsschwankungen der Dünnschichtplatten, Temperaturschwankungen etc. — unter anderem daran, daß wir recht kompliziert zusammengesetzte Reaktionsgemische entweder direkt oder nach verschiedenartiger vorheriger Reinigung auf die Platte auftrugen.

In Abb. 2 sind die  $\log R_f$ -Werte eines Chromatogramms aufgetragen, das bei einem anderen Oxydationsversuch gewonnen wurde. In dieser Abbildung, die nur  $R_f$ -Werte zwischen 0,5 und 1,0 berücksichtigt, stellt die Gerade 1 die Lage der orangefelben, die Gerade 2 die der roten Flecken dar. Auch in dieser Abbildung konnten wir wiederum zwei Punkte der Geraden 1 dem Isocryptoxanthin ( $n = 1$ ) und dem Isozeaxanthin ( $n = 2$ ) zuordnen. Außerdem war uns ein Punkt der Geraden 2 — nämlich der mit dem  $\log R_f$ -Wert 0,934—1 und  $n = 2$  — als dem 4-Keto-4'-hydroxy- $\beta$ -carotin zugehörig bekannt.

Beim Suchen nach einer Erklärung für diese Abhängigkeit nahmen wir zunächst in grober Vereinfachung an, daß die  $R_f$ -Werte in Verbindungsreihen, wie sie oben an einem Beispiel beschrieben wurden, nur von der Anzahl der als Haftgruppen am Träger dienenden, funktionellen Gruppen, also z. B. der OH-Gruppen, abhängen. Damit vernachlässigen wir unter anderem die Einflüsse der funktionellen Gruppen untereinander wie auch deren Einflüsse auf das im wesentlichen gleiche C, H-Skelett sowie auch die sterischen Verhältnisse.

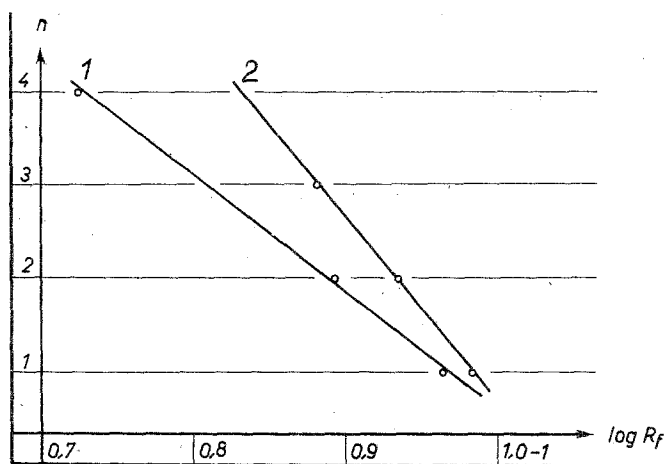


Abb. 2

Wir nahmen nun an, daß der relative Zuwachs des  $R_f$ -Wertes bei dem Verlust einer bestimmten funktionellen Gruppe konstant sei entsprechend der Formel

$$\frac{\Delta R_f}{\Delta n} / R_f = \text{const.},$$

in der  $n$  die Zahl der funktionellen Gruppen bedeutet.

Durch Übergang zu Differentialen und folgende unbestimmte Integration ergibt sich:

$$\log R_f = \text{const.} \cdot n + \text{const.},$$

d. h. die Gleichung einer Geraden in einem entsprechenden Diagramm.

Um das Vorliegen dieser Abhängigkeit, sei es auch nur für die als Beispiel angeführte Reihe der Oxydationsprodukte des  $\beta$ -Carotins, vollständig beweisen zu können, wäre es notwendig, die den weiteren Farbflecken von bestimmten  $R_f$ -Werten zugeordneten Verbindungen zu isolieren und ihre Konstitution sicherzustellen. Dies dürfte aber wegen der Empfindlichkeit dieser Substanzen besonders gegen oxydative Einflüsse sehr große Schwierigkeiten mit sich bringen. Immerhin ist es durchaus

denkbar, daß Verbindungen mit bis zu 8 Hydroxylgruppen in Oxydationsprodukten des  $\beta$ -Carotins vorkommen können.

Wir wollen mit der Veröffentlichung nur Forscher, die geeignete Reihen anderer Substanzklassen mit Hilfe der immer weiter verbreiteten Dünnschichtchromatographie untersuchen, anregen, auf gleiche oder ähnliche Regelmäßigkeiten zu achten.

Für uns lag nun der Gedanke nahe, die für die Verteilungschromatographie beschriebene Beziehung zwischen Struktur und  $R_m$ -Wert  $\left[ R_m = \log \left( \frac{1}{R_f} - 1 \right) \right]$  trotz der scheinbaren Verschiedenheit der zugrunde liegenden Vorgänge mit der am oben angeführten Beispiel der Adsorptionschromatographie gefundenen Regelmäßigkeit zu vergleichen.

Leider konnten wir den Monographien<sup>1</sup> über Papierchromatographie nur wenige Beispiele entnehmen, in denen die  $R_f$ -Werte von Reihen mit einer variierten Anzahl von funktionellen Gruppen in demselben Chromatogramm angeführt sind. In den wenigen uns zugänglichen Beispielen treffen die Vereinfachungen, die unserer Ableitung zugrunde liegen — wie das Fehlen eines Einflusses der funktionellen Gruppen aufeinander usw. — kaum mehr ausreichend zu.

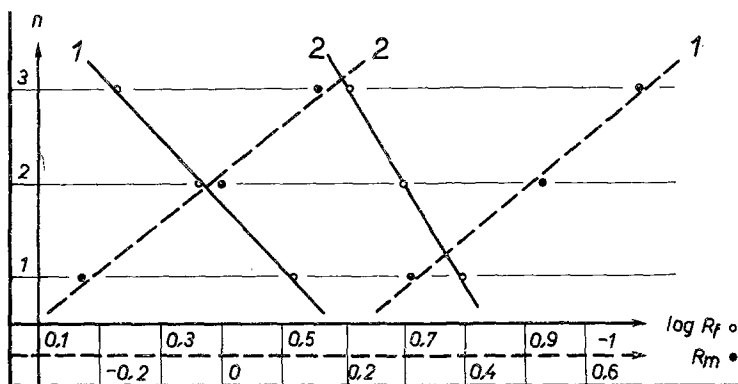


Abb. 3

In den folgenden Abbildungen stellen wir die der Literatur entnommenen  $R_f$ -Werte einerseits als  $R_f$ , andererseits als  $R_m$  auf der Abszisse, die Zahl  $n$  der funktionellen Gruppen auf der Ordinate dar.

In Abb. 3 fußen wir auf der bei Lederer<sup>1</sup> zitierten Arbeit von Wade und Morgan<sup>2</sup>, in der die Autoren die papierchromatographische Trennung

<sup>1</sup> E. und M. Lederer: Chromatography, 2nd Edition, Elsevier Amsterdam 1957. J. M. Hais und K. Macek: Handbuch der Papierchromatographie 1. Teil, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1958.

<sup>2</sup> H. E. Wade und D. M. Morgan, Biochemic. J. 60, 264 (1955).

von Inosin-5'-monophosphat, Inosin-5'-diphosphat und Inosin-5'-triphosphat sowie von Adenosin-5'-monophosphat, Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-triphosphat beschreiben. Als Zahl der funktionellen

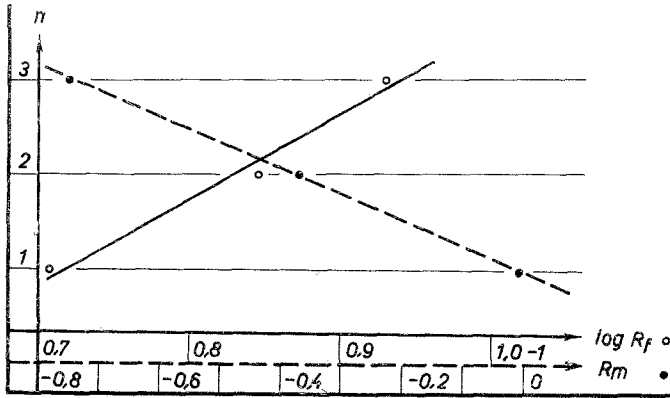


Abb. 4

Gruppen wird die Anzahl der Phosphatreste angesehen, also Monophosphat:  $n = 1$ , Diphosphat:  $n = 2$ , Triphosphat:  $n = 3$ . Die Geraden 1 beziehen sich auf die Derivate des Inosins, die Geraden 2 auf die des Adenosins.

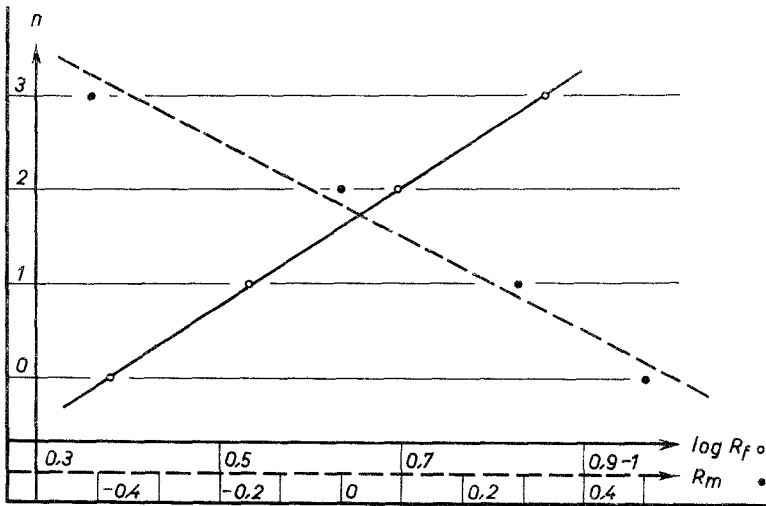


Abb. 5

Abb. 4 zeigt einen Fall, in dem die  $R_m$ -Werte mit großer Präzision die Linearbedingung erfüllen, während dies nicht der Fall ist, wenn die  $\log R_f$ -Werte verwendet werden. Es handelt sich um die einer Arbeit

von *Kent*, *Lawson* und *Senior*<sup>3</sup> entnommene Papierchromatographie von 2,3-Dimethyl-D-glucose ( $n = 1$ ), 2,3,4-Trimethyl-D-glucose ( $n = 2$ ) und 2,3,4,6-Tetramethyl-D-glucose ( $n = 3$ ) mit Butanol:Äthanol:Wasser = 40:10:50. Die Zuordnung der Zahlen für  $n$  ist willkürlich; vermutlich wäre es richtiger, die Anzahl der freien OH-Gruppen mit  $n$  zu bezeichnen.

Hingegen ist bei der Reihe von N-Acetyl-D-glucosamin ( $n = 0$ ), 3-Methyl-N-acetyl-D-glucosamin ( $n = 1$ ), 4,6-Dimethyl-N-acetyl-D-glucosamin ( $n = 2$ ) und 3,4,6-Trimethyl-N-acetyl-D-glucosamin ( $n = 3$ ), die der Veröffentlichung der gleichen Autoren<sup>3</sup> entnommen und in Abb. 5 dargestellt ist, eine lineare Abhängigkeit der  $\log R_f$ -Werte klar bevorzugt.

In diesem Zusammenhang möchten wir darauf hinweisen, daß in der gleichen Arbeit<sup>3</sup> die  $R_f$ -Werte für Di-, Tri- und Tetramethyl-D-Mannose 0,53, 0,70 und 0,68 betragen, also keine ständige Zunahme mehr zeigen.

Endlich wollen wir noch in Abb. 6 die Ergebnisse von *Long* und Mitarb.<sup>4</sup> bei der Papierchromatographie von Mono-, Di- und Trichloressig-

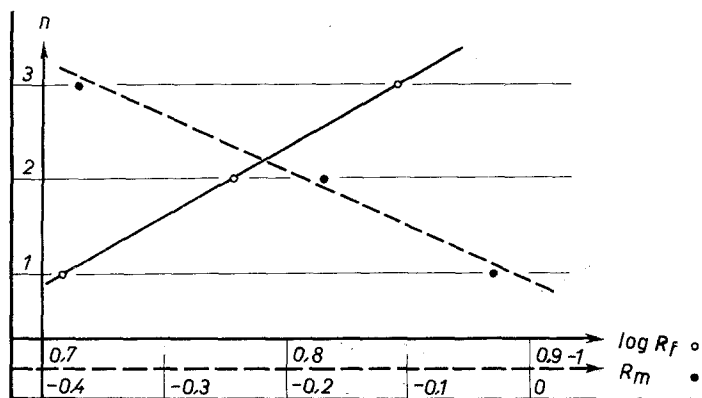


Abb. 6

säure mit Äthanol:Ammoniak:Wasser = 80:4:16 zur Darstellung bringen.  $n$  bedeutet hier die Zahl der Chloratome. Obwohl hier sicherlich ein starker Einfluß der als funktionelle Gruppen aufgefaßten Cl-Atome auf die Dissoziationskonstanten der Carbonsäuren gegeben ist, liegt eine sehr gute Linearität vor, wenn man die  $\log R_f$ -Werte auf der Abszisse aufträgt.

<sup>3</sup> P. W. Kent, G. Lawson und A. Senior, Science [U. S. A.] **113**, 354 (1951).

<sup>4</sup> A. J. Long, J. R. Quayle und R. J. Stedman, J. Chem. Soc. [London] **1951**, 2197.