

VERWENDUNG DER FADENCHROMATOGRAPHIE ZUR TRENNUNG VON ^{14}C - UND ^3H -MARKIERTEN VERBINDUNGEN

Von

F. SIROKMÁN, E. KÖVES, M. SZABÓ und L. MÉSZÁROS
Institut für Radiochemie, Pflanzenphysiologie und Angewandte Chemie
der Attila-József-Universität, Szeged

(Eingegangen am 2. März 1974)

Auf Glasplatten mit verschieden großen Trogmulden gelang die Trennung eines Konjugates aus ^{14}C -markierten Indol-3-Essigsäure-Metaboliten und ^3H -markierter Asparaginsäure mittels Silikagel-Fadenchromatographie. Bei Trennung eines Materialgemisches von $1\ \mu\text{g}$ war autoradiographisch eine Aktivität von $10^{-4}\ \mu\text{Ci}$ nachweisbar.

Das Ziel der Entwicklung der Materialisolierungsmethoden ist, einerseits die Trennung verschiedener Verbindungen auch im Falle von chemisch geringfügig erscheinenden Unterschieden immer wirksamer zu gestalten, andererseits durch mikroanalytische Methoden auch den Nachweis und die Trennung geringster Materialmengen zu ermöglichen. Die benutzten Methoden sind oft einfach und genau. Das als Fadenchromatographie bezeichnete Verfahren hat erstmalig EDSTRÖM [1] für fadenelektrophoretische Zwecke verwandt. MÉSZÁROS und MÉSZÁROS [2] arbeiteten ein Verfahren aus, das die chromatographische Trennung geringster Mengen verschiedener Stoffe gestattet. Die Verfasser stellten verschiedene Trägerfäden her, teils indem sie auf Glasplatten parallele Rinnen ausätzten und diese mit dem entsprechenden Reagens bzw. mit der festen Phase beschickten. Als eine weitere Möglichkeit zur Ausgestaltung der Trägerfäden beschreiben sie die Anwendung von zwischen Glasrahmen gespannten Fäden aus verschiedenem Material (Glas, Polyester usw.), mit dem Träger versehen, oder u.U. auch ohne Träger [3].

Mit Hilfe der Fadenchromatographie läßt sich die Trennung kleiner Materialmengen, u. zw. nach Literaturangaben [4—6] bis zu $1\text{—}5\ \mu\text{g}$ herab, erreichen. Die Anwendbarkeit der Methoden haben wir im Falle von radioaktiv markierten Verbindungen untersucht. Es wurden Glasplatten mit Rinnen verschiedener Größe benutzt, in denen das geeignete Adsorbent mit den bei der Dünnschichtchromatographie üblichen Methoden angewandt wurde. Die kleinsten trennbaren Isotopenkonzentrationen wurden mittels der autoradiographischen Röntgen-Filmtechnik kontrolliert. Im Falle der ^3H -markierten Verbindungen benützten wir die Methode von LÜTHI und WASER [7], wonach Silikagel und Anthracen zuvor in einem Gemisch von 1:1 homogenisiert und als Adsorbent verwendet wird. Um die Verteilung des Materials am Faden zu verfolgen, verwandten wir zuerst einen Packard'schen Tricarb-Chromatogramm-Scanner, doch erwies sich zur Messung der kleinen Aktivitäten die

Autoradiographie als empfindlicher. Bessere Resultate waren durch Eluierung und Flüssigkeits-Scintillationsmessung der aktiven Flecken zu erreichen.

Bei Benutzung der autoradiographischen Meßtechnik ergab sich die Nachweisbarkeitsgrenze zu $4 \cdot 10^{-4}$ μCi . Zur Bestimmung wurden Serien von ^{14}C -markierter Verbindungen mit bekannter Aktivität bei einwöchiger Expositionsdauer benützt. Bei der Anwendung markierter Verbindungen mit hoher spezifischer Aktivität war aufgrund der Nachweisgrenzen-Aktivität das Separieren und der Nachweis von Mengen bis zu etwa 10^{-9} g möglich.

Die Anwendbarkeit des Verfahrens in biologischen Systemen wurde mittels der Trennung der Metabolite der 2- ^{14}C -Indol-3-essigsäure aus pflanzlichem Material geprüft. In früheren Untersuchungen mit Papier- und Dünnschichtchromatographie [8] gelang uns mit größeren Materialmengen nur der Nachweis von insgesamt drei radioaktiven Metaboliten, während mit der Fadenchromatographie fünf Stoffe mit R_f -Werten von 0,07, 0,35, 0,36, 0,75 bzw. 0,80 zu unterscheiden waren. Die Methode ist somit nicht nur von größerer Empfindlichkeit, sondern sichert auch eine bessere Trennung als die Papier- bzw. die Dünnschichtchromatographie.

In weiteren Versuchen wurden Pflanzenbestandteile mit ^3H -Asparaginsäure inkubiert. Bei der Fadenchromatographie der Metabolite gelang es, das *in vivo* entstandene Konjugat der Indol-3-essigsäure und der Asparaginsäure, die radioaktive Indol-3-acetyl-asparaginsäure, nachzuweisen, was mit der Dünnschichtchromatographie nicht zu erreichen war.

Literatur

- [1] Edström J. E.: Nature 32, 809 (1951).
- [2] Mészáros L., I. Mészáros: Fette, Seifen, Anstrichmittel 70, 486 (1968).
- [3] Lenk H. P., H. Gruber: Mikrochim. Acta (Wien) 1972, 646.
- [4] Mahon J., A. A. Benedetti—Pichler: Mikrochim. Acta (Wien) 1960, 831.
- [5] Mészáros L.: Fette, Seifen, Anstrichmittel 72, 870 (1970).
- [6] Tichonov G. S. und I. A. Tichomirov: Z. Anal. Chim. 24, 1258 (1969).
- [7] Lüthi U., P. F. Waser: Nature 205, 1190 (1965).
- [8] Köves E., F. Sirokmán: Biochem. Physiol. Pflanzen 164, 276 (1973).

ПРИМЕНЕНИЕ ФИБРИЛЛЯРНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВ МЕЧЕННЫХ ^{14}C И ^3H

Ф. Широ́кман, Е. Көвеш, М. Сабо, Л. Месарош

С применением силикагельной фибриллярной хроматографии удалось провести разделение смеси индол-3-уксусноислых метаболитов и аспарагиновой кислоты, меченых ^{14}C и ^3H соответственно. Применяя смеси веществ в количестве 1 μg , автордиографически можно было обнаружить 10^{-4} μCi .

TOMI PRIORES

Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. I,	Fasc. 1—2,	1928—29.
Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. II,	Fasc. 1—2,	1932.
Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. III,	Fasc. 1—3,	1934.
Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. IV,	Fasc. 1—3,	1934.
Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. V,	Fasc. 1—3,	1937.
Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. VI,	Fasc. 1—3,	1938.
Acta Chemica, Mineralogica et Physica,	Tom. VII,	Fasc. 1—3,	1939.
Acta Chemica et Physica,	Tom. I,	Fasc. 1—2,	1942.
Acta Chemica et Physica,	Tom. II,	Fasc. 1—6,	1948—50.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. I,	Fasc. 1—4,	1955.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. II,	Fasc. 1—4,	1956.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. III,	Fasc. 1—5,	1957.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. IV,	Fasc. 1—2,	1958.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. IV,	Fasc. 3—4,	1958.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. V,	Fasc. 1—2,	1959.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. V,	Fasc. 3—4,	1959.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. VI,	Fasc. 1—4,	1960.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. VII,	Fasc. 1—2,	1961.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. VII,	Fasc. 3—4,	1961.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. VIII,	Fasc. 1—2,	1962.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. VIII,	Fasc. 3—4,	1962.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. IX,	Fasc. 1—2,	1963.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. IX,	Fasc. 3—4,	1963.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. X,	Fasc. 1—2,	1964.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. X,	Fasc. 3—4,	1964.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XI,	Fasc. 1—2,	1965.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XI,	Fasc. 3—4,	1965.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XII,	Fasc. 1—2,	1966.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XII,	Fasc. 3—4,	1966.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIII,	Fasc. 1—2,	1967.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIII,	Fasc. 3—4,	1967.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIV,	Fasc. 1—2,	1968.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIV,	Fasc. 3—4,	1968.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XV,	Fasc. 1—2,	1969.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XV,	Fasc. 3—4,	1969.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XVI,	Fasc. 1—2,	1970.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XVI,	Fasc. 3—4,	1970.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XVII,	Fasc. 1—2,	1971.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XVII,	Fasc. 3—4,	1971.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XVIII,	Fasc. 1—2,	1972.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XVIII,	Fasc. 3—4,	1972.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIX,	Fasc. 1—2,	1973.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIX,	Fasc. 3,	1973.
Acta Physica et Chemica, Nova series	Tom. XIX,	Fasc. 4,	1973.