

der Hauptbanden für Tetraphenylporphin bei 5110 Å, für CuP bei 5400 Å und für ZnP bei 5520 Å⁶).

SUMMARY.

The kinetics of complex formation of Cu²⁺-tetraphenylporphine in the presence of Mg²⁺, described in a previous paper, are discussed. The rate of formation of Cu²⁺- and of Zn²⁺-tetraphenylporphine has been determined in a buffered system.

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel.

⁶) Über die Lage der Absorptionsmaxima in andern Lösungsmitteln vgl. ⁴).

247. Die papierchromatographische Trennung der Mutterkornalkaloide

von R. Schindler und A. Bürgin.

(6. X. 56.)

Aus Extrakten von *Secale cornutum* sind bis jetzt neben 2 wasserlöslichen 10 wasserunlösliche Alkaloide isoliert worden, welche trotz ihrer engen konstitutionellen Verwandtschaft in ihrer pharmakologischen Wirksamkeit grosse Unterschiede aufweisen, vor allem wenn man die linksdrehenden Abkömmlinge der Lysergsäure mit den betreffenden isomeren rechtsdrehenden Abkömmlingen der Isolysergsäure vergleicht. Andererseits beruhen die empfindlichen chemischen Bestimmungsmethoden für diese Alkaloidgruppe auf gemeinsamen Reaktionen oder Eigenschaften der Lysergsäure und Isolysergsäure; somit ist für die chemische Bestimmung der Zusammensetzung eines Mutterkornalkaloidgemisches, wie sie für die Arzneimittelkontrolle wünschbar wäre, eine quantitative Auftrennung in die einzelnen Alkaloide notwendig.

Für Auftrennungen von Mutterkornalkaloidgemischen im Mikromaßstab ist in mannigfacher Weise die Papierchromatographie und die Chromatographie mit Cellulosesäulen herangezogen worden, ohne dass indessen mit den bisher beschriebenen Methoden eine vollständige Auftrennung der 10 wasserunlöslichen Alkaloide gelungen wäre.

So verwendeten *Brindle, Carless & Woodhead*¹), *Carless & Woodhead*²), *Berg*³) sowie *Carless*⁴) gepuffertes Chromatographiepapier bzw. gepufferte Cellulosesäulen als stationäre

¹) *H. Brindle, J. E. Carless & H. B. Woodhead, J. Pharm. Pharmacol.* **3**, 793 (1951).

²) *J. E. Carless & H. B. Woodhead, Nature* **163**, 203 (1951).

³) *A. M. Berg, Pharm. Weekbl.* **86**, 900 (1951).

⁴) *J. E. Carless, J. Pharm. Pharmacol.* **5**, 883 (1953).

und Äther als mobile Phase. *Macek, Cerny & Semonsky*⁵⁾ behandelten das Papier mit Formamid und benutzten ein Benzol-Chloroform-Gemisch als mobile Phase. *Pöhm & Fuchs*⁶⁾ imprägnierten das Papier mit Formamid enthaltend 4% Benzoesäure und chromatographierten mit einem Tetrachlorkohlenstoff-Chloroform-Benzol-Gemisch. *Tyler & Schwarting*⁷⁾ behandelten das Papier mit Formamid, Propylenglykol oder Silikon. *Stoll & Rüeegger*⁸⁾ erreichten eine gute Auftrennung innerhalb der einzelnen Gruppen durch Chromatographie mit Formamid-Wasser-Gemischen auf mit Dimethylphthalat imprägniertem Papier. Auftrennungen innerhalb der Ergotoxingruppe auf gepuffertem Filtrierpapier mit einem Benzol-Äthanol-Gemisch wurden von *Berg*⁹⁾ beschrieben.

Eine Nachprüfung (s. Diss. *Schindler*)¹⁰⁾ ergab, dass einzig mittels der Methode von *Stoll & Rüeegger* eine gute Trennung innerhalb der einzelnen Gruppen möglich ist, dass dagegen durch keines der erwähnten Verfahren eine saubere Trennung der Ergotaminin- von der Ergotoxingruppe erreicht wird (Gruppeneinteilung der Mutterkornalkaloide siehe Tabelle). Ebenso beschreiben *Tanaka & Kimura*¹¹⁾ nur geringe Trenneffekte für die wasserunlöslichen Alkaloide mit Eisessig-Butanol-Wasser-Gemischen bzw. wässriger Weinsäurelösung.

Es zeigte sich nun, dass die Trennung der Ergotaminin- von der Ergotoxingruppe durch saure pH-Werte der polaren Phase begünstigt wird¹⁰⁾. Mit dem Ziel, unter Verwendung der Methode *Stoll-Rüeegger* in der 2. Dimension eines zweidimensionalen Papierchromatogramms alle wasserunlöslichen Mutterkornalkaloide zu trennen, suchten wir deshalb nach einem sauren Phasenpaar für die Chromatographie in der 1. Dimension, das ohne energisches Trocknen, welches die Alkaloide zerstören könnte, eine anschliessende Chromatographie nach *Stoll-Rüeegger* in der 2. Dimension erlaubt. Als geeignet erwies sich Ameisensäure als stabile, mit Chloroform als mobiler Phase.

Die dadurch ermöglichte zweidimensionale Auftrennung der Mutterkornalkaloide wird durch die tabellarische Zusammenstellung der Rf-Werte veranschaulicht. Diese Werte können je nach den Bedingungen etwas variieren, doch bleibt der Trenneffekt immer erhalten. Begleitstoffe, wie sie in *Extractum Secalis cornuti* oder in *Bellergal* (E.M.) als Beispiel eines zusammengesetzten Arzneimittels vorkommen, stören nicht.

Die quantitative Bestimmung der Alkaloide im Chromatogramm nach *Pöhm & Fuchs*¹²⁾ ergab, dass die Verschleppungserscheinungen während der Chromatographie für die linksdrehenden Alkaloide Ver-

5) *K. Macek, A. Cerny & M. Semonsky*, Pharmazie **9**, 388 (1954).

6) *M. Pöhm & L. Fuchs*, Naturwiss. **41**, 63 (1954).

7) *E. Tyler & A. E. Schwarting*, J. Amer. pharmac. Ass. **41**, 354 (1952).

8) *A. Stoll & A. Rüeegger*, Helv. **37**, 1725 (1954).

9) *A. M. Berg*, Pharm. Weekbl. **87**, 282 und 305 (1952).

10) *R. Schindler*, Diss. Bern 1956 (Mikrofilmkopien der ungekürzten Dissertation sind von der Stadt- und Hochschulbibliothek Bern erhältlich).

11) *M. Tanaka & T. Kimura*, J. pharmac. Soc. Japan **74**, 403 (1954).

12) *M. Pöhm & L. Fuchs*, Naturwiss. **40**, 244 (1953).

luste von 23 bis 42% zur Folge haben, während die Flecke der rechtsdrehenden Isomeren wesentlich besser abgegrenzt sind. In Kombination mit einer quantitativen Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes erlaubt diese Trennmethode somit eine recht gute Charakterisierung eines Gemisches.

Die Rf-Werte der Mutterkornalkaloide im zweidimensionalen Chromatogramm.

Alkaloidgruppe	Alkaloid	Rf-Werte 1. Dim.	Rf-Werte 2. Dim.	
			pH der mobilen Phase: 4,2	pH der mobilen Phase: 5,0
Ergobasin- gruppe	Ergobasin	0,00	—	0,71
	Ergobasinin	0,00	—	0,78
Ergotamin- gruppe	Ergotamin	0,07	0,62	0,40
	Ergosin	0,07	0,73	0,54
Ergotaminin- gruppe	Ergotaminin	0,02	0,57	0,21
	Ergosinin	0,02	0,70	0,34
Ergotoxin- gruppe	Ergocristin	0,20	0,42	0,14
	Ergokryptin	0,21	0,51	0,21
	Ergocornin	0,17	0,61	0,30
Ergotinin- gruppe	Ergocristinin	0,05	0,15	0,01
	Ergokryptinin	0,04	0,22	0,03
	Ergocorninin	0,03	0,31	0,06

Experimenteller Teil.

1. Vorbehandlung des Papiers. Der Papierbogen (*Schleicher & Schüll* Nr. 2043 a, Grösse ca. 33 × 36 cm) wird durch eine 5-proz. (Vol./Vol.) Lösung von *Dow Corning* Silicone Nr. 1107 in Cyclohexan gezogen, an der Luft getrocknet und darauf 1 Std. im Trockenschrank auf 110° erhitzt (Vorschrift von *Kritchevsky & Tiselius*)¹³. Zur Entfernung des nicht chemisch gebundenen Silikons lässt man durch das Papier wie bei einem Durchlaufchromatogramm eine 6-proz. Lösung von Ameisensäure in Chloroform laufen, und zwar in gleicher Richtung wie beim Chromatographieren in der 1. Dimension (Sättigung der Kammer wie bei der Chromatographie in der 1. Dimension; Dauer des Durchlaufens ca. 8 Std.). Anschliessend wird der Bogen an der Luft getrocknet.

Diese Vorbehandlung setzt die Isomerisierung der Alkaloide während der Chromatographie deutlich herab.

2. Die Chromatographie in der 1. Dimension wird senkrecht zum Wasserzeichenpfel ausgeführt. Die Kammer muss mit den Dämpfen des Gemisches Chloroform-Ameisensäure 9:1 gesättigt sein. Die absteigende Chromatographie ist wegen der kürzeren Dauer der aufsteigenden vorzuziehen.

Der gemäss 1 vorbehandelte Papierbogen wird durch ein Gemisch von Ameisensäure-Aceton 6:4 gezogen, 10 Min. an die Luft gehängt und darauf in die Chromatographiekammer gebracht. (Zu geringer Gehalt des Papiers an Ameisensäure führt zur

¹³) T. H. Kritchevsky & A. Tiselius, *Science* **114**, 299 (1951).

Bildung von Schwänzen.) 2 bis 7 Min. nach der Imprägnierung wird die Alkaloidlösung (als besonders geeignetes Lösungsmittel erwies sich Dichloressigsäure-methylester) auf den Startpunkt aufgesetzt, wenn nötig mehrmals nacheinander in kleinen Portionen von ca. 1 mm³. Die aufgesetzte Menge beträgt pro Einzelalkaloid mit Vorteil 10 bis 20 γ , jedoch findet noch mit 50 γ eine gute Trennung statt; andererseits ist noch 1 γ mit der Farb-reaktion erkennbar.

Sobald der Bogen in die Kammer gebracht worden ist, wird die mobile Phase, Chloroform-Ameisensäure 9:1, mit dem Rand des Bogens in Berührung gebracht. (Niedrigerer Gehalt der mobilen Phase an Ameisensäure führt zu Schwanzbildung; höherer Gehalt führt zur Anreicherung von Ameisensäure im Papier und zur Bildung einer zweiten, Ameisensäure-reichen Front, welche, wenn sie die Alkaloide überschreitet, eine starke Verringerung der Trennwirkung zur Folge hat.)

Zur Bestimmung von Ergocristin, Ergokryptin und der Ergotiningruppe lässt man die Lösungsmittelfront etwa 14 cm — vom Startpunkt der Alkaloide aus gerechnet — wandern, zur Bestimmung von Ergocornin, der Ergotamin- und der Ergotamingruppe etwa 22 cm. Sobald die Distanz erreicht ist, wird der Bogen aus der Kammer genommen und 15 Min. an der Luft getrocknet. Dabei wird die Lage der Alkaloidflecke mittels UV.-Fluoreszenz festgestellt. Unter Belassung eines beidseitigen Randes wird derjenige Streifen (ca. 33 \times 12 cm) aus dem Papier herausgeschnitten, auf welchem die Alkaloide in der 2. Dimension wandern werden. Dieser Streifen wird in einem grossen Exsikkator mit Natronkalk durch mindest 2stündiges Belassen im Vakuum (15 bis 20 mm Hg) von der Ameisensäure befreit. (Bei ungenügender Evakuierung werden die Rf-Werte in der 2. Dimension wegen der im Papier verbleibenden Ameisensäure zu gross.)

3. Die Chromatographie in der 2. Dimension erfolgt im wesentlichen nach *Stoll & Rüeegger*⁸⁾. Der Papierstreifen muss von beiden Seiten bis nahe an die Startlinie in eine 10-proz. Lösung von Dimethylphthalat in Isopropyläther getaucht, 15 Min. an der Luft hingengelassen und dann in die Chromatographiekammer gebracht werden. Sofort anschliessend wird die 2. Chromatographie ausgeführt. Auch hier hat die absteigende Methode den Vorteil grösserer Schnelligkeit, so dass die Alkaloide weniger Zeit zur Isomerisierung haben.

Die mobile Phase, Wasser-Formamid 6:4, soll eine so grosse Pufferkapazität besitzen, dass ein Zusatz von 8 ml 2-n. Ameisensäure zu 100 ml des Gemisches nötig ist, um das pH von 5,0 auf 4,0 zu verschieben. Ist die Pufferkapazität geringer, wird sie durch Zugabe von Ammoniak und Ameisensäure auf diese Höhe gebracht; ist sie grösser, muss reineres Formamid verwendet werden. (Zu kleine Pufferkapazität der mobilen Phase ergibt zu kleine Rf-Werte und verringert den Trenneffekt¹⁴⁾.) Die mobile Phase wird entsprechend der Vorschrift von *Stoll-Rüeegger* mit Phtalsäure-dimethylester gesättigt.

Man lässt die mobile Phase ca. 27 cm — von der Startlinie aus gerechnet — wandern. Bei unbekanntem Alkaloidgemischen empfiehlt es sich, in der 2. Dimension ein bekanntes Mutterkornalkaloid, z. B. Ergotamin, zwecks sicherer Identifizierung der einzelnen Flecke mitlaufen zu lassen. Letztere sind immer vor intensivem Licht zu schützen; es empfiehlt sich, Arbeiten bei künstlichem Licht und Verdunkeln der Chromatographiekammer vorzunehmen.

4. Das Trocknen und Färben der Chromatogramme zur qualitativen Beurteilung geschieht nach *Stoll-Rüeegger*.

Zusammenfassung.

Es wird die Trennung der wasserunlöslichen Mutterkornalkaloide durch zweidimensionale Papierchromatographie beschrieben. Für die

¹⁴⁾ Vgl. Dissertation *R. Schindler*¹⁰⁾.

Chromatographie in der 1. Dimension werden Ameisensäure als stabile und Chloroform als mobile Phase verwendet, für die Chromatographie in der 2. Dimension dienen, entsprechend der Methode von *Stoll & Rüegger*⁸⁾, Phtalsäure-dimethylester als stabile und ein Formamid-Wasser-Gemisch von bestimmten pH-Werten und bestimmter Pufferkapazität als mobile Phase.

Pharmazeutisches Institut und Pharmakologisches Institut
der Universität Bern.

248. Sur le dosage complexométrique des terres rares.

Note complémentaire¹⁾

par **G. Brunisholz** et **R. Cahen**.

(31 X 56)

Les terres rares peuvent être dosées par titrage complexométrique en présence d'un mélange tampon acide acétique-acétate d'ammonium et d'un indicateur mixte alizarinesulfonate-bleu de méthylène²⁾. A ce propos, nous avons signalé¹⁾ que le virage est moins net avec les terres yttriques qu'avec les terres cériques. Par la suite, nous avons rencontré des difficultés lors du titrage de mélanges de terres yttriques enrichies en erbium et ytterbium. Le virage n'est obtenu que si on maintient la solution presque à ébullition. Lorsque la solution se refroidit, elle reprend sa couleur primitive. La stabilité des complexes avec l'alizarinesulfonate augmente apparemment très fortement dans la série des lanthanides. Malheureusement, nous n'avons pas trouvé un autre indicateur utilisable en présence du tampon acide acétique-acétate d'ammonium.

Dans sa méthode de titrage complexométrique des terres rares, *Schwarzenbach*³⁾ utilise le noir ériochrome T comme indicateur et la triéthanolamine comme tampon. L'inconvénient de cette méthode réside dans le fait qu'un excès même faible de ce réactif fait traîner le virage. L'adjonction de la triéthanolamine doit par conséquent être soigneusement contrôlée par la mesure du pH à la touche, ce qui rend le dosage fastidieux, surtout pour les travaux en série.

¹⁾ Voir *Helv.* **39**, 324 (1956).

²⁾ La solution aqueuse de cet indicateur n'est pas stable; il faut utiliser un mélange d'alizarinesulfonate à 0,5% dans l'alcool à 60% et de bleu de méthylène à 0,1% dans l'alcool à 95%.

³⁾ *G. Schwarzenbach*, Die komplexometrische Titration, p. 61, F. Enke, Stuttgart 1955.