

Beitrag zur quantitativen papierchromatographischen Analyse von Tropinalkaloiden

In der Literatur ist eine Vielzahl von Methoden zur quantitativen papierchromatographischen Analyse von Tropinalkaloiden beschrieben worden. Ohne auf die verschiedenen Verfahren im einzelnen hier einzugehen, wird zusammenfassend folgendes festgestellt:

Die chromatographische Auftrennung der Tropinalalkaloide gelingt aufsteigend, absteigend oder radial an unbehandeltem oder präpariertem Papier in mehreren Lösungsmittelgemischen gut (Atropin und Hyoscyamin haben stets den gleichen R_F -Wert). Die quantitative Bestimmung der so getrennten Alkaloide ist nach drei Grundprinzipien möglich:

1. Durch Elution der getrennten Alkaloidflecken mit verschiedenen Lösungsmitteln, Anfärben der Eluate nach einer der bekannten Farbreaktionen und photometrische Bestimmung;

2. Durch Elution der vorwiegend mit Dragendorffs Reagens auf dem Papier direkt angefärbten Alkaloidzonen mit verschiedenen Lösungsmitteln und ihre colorimetrische Untersuchung;

3. Auf dem Wege der direkten Photometrie der Papierstreifen im durchfallenden oder remittierten Licht. Eine besondere Variante des letzteren Prinzips stellt die Methode von MIRAM UND PFEIFER¹ dar, nach der die Chromatogramme mit Dragendorffs Reagens angefärbt, davon schwarzweisse Kontaktnegative hergestellt und diese im durchfallenden Licht photometriert werden.

Jede dieser Methoden hat gewisse Vor- aber auch Nachteile. Für Routineuntersuchungen sind die auf dem 2. Grundprinzip basierenden Methoden am besten geeignet. Sie arbeiten schnell, einfach und stellen keine grossen apparativen Anforderungen. Ein billiges Photometer genügt zur photometrischen Bestimmung der Alkaloid-jodowismutat-Komplexe. Der Nachteil dieser Methoden ist die mehr oder weniger intensive Grundfärbung des Papiers beim Ansprühen bzw. Baden der Chromatogramme mit Dragendorffs Reagens. Das Reagens wurde deshalb schon mehrfach modifiziert, gibt aber in allen Fällen einen endlichen Leerwert. Eine sehr schwache Grundfärbung erhält man mit dem von TRABERT² abgewandelten Dragendorff-Reagens. Das von ROBLES³ vorgeschlagene Verfahren zur völligen Entfärbung der mit Dragendorffs-Reagens behandelten Papiere durch Nachwaschen der Chromatogramme mit 0.1 N Salzsäure ist für quantitative Untersuchungen ungeeignet, da die Alkaloidflecken und die Grundfarbe des Papiers gleich schnell verblassen. Färbt man dagegen die Chromatogramme nach TRABERT² an und lässt über Nacht trocknen, so verblasst nach unseren Erfahrungen die Grundfarbe des Papiers weitgehend ohne nennenswerte Aufhellung der Alkaloidflecken, besonders dann, wenn man in Butanol-Eisessig-Wasser chromatographiert hat. TRABERT² verwendet zur Elution der ausgeschnittenen und zerschnitzelten Alkaloidflecken Essigsäureanhydrid. Wir haben nach einem weniger aggressiven, geeigneteren Lösungsmittel gesucht. Von einigen der hierfür in Betracht kommenden polaren Elutionsmitteln (in nicht- oder schwachpolaren Lösungsmitteln ist der Alkaloid-jodowismutat-Komplex unlöslich) sind in Tabelle I die Quotienten aus den Extinktionen der Eluate gleich grosser Flächenstücke Alkaloid-Komplex und Papierleerwert graphisch dargestellt.

Nach Tabelle I ist Aceton ein wesentlich besseres Lösungsmittel für die Alkaloid-jodowismutat-Komplexe als Essigsäureanhydrid. In Fig. 1 sind die Absorptionsspektren der Eluate des Atropin-jodowismutats und des Papierleerwerts in Aceton wiedergegeben.

TABELLE I

Elutionsmittel	$\frac{E \text{ Alkaloid-Komplex}}{E \text{ Leerwert}} (\lambda = 420 \text{ nm})$
Aceton	
Essigsäureäthylester	
Essigsäureanhydrid	
Dioxan	

Die grösste Differenz zwischen der Extinktion des Atropin-Komplex- und Leerwerteluats (entsprechendes gilt für den Hyoscyamin- und Scopolamin-Komplex) wird unterhalb von 400 nm gemessen. Die Veränderung von Farbintensität und Absorptionsspektrum des Atropin-jodowismutats in Abhängigkeit von der Zeit (10-60 Min) ist in Fig. 2 graphisch dargestellt.

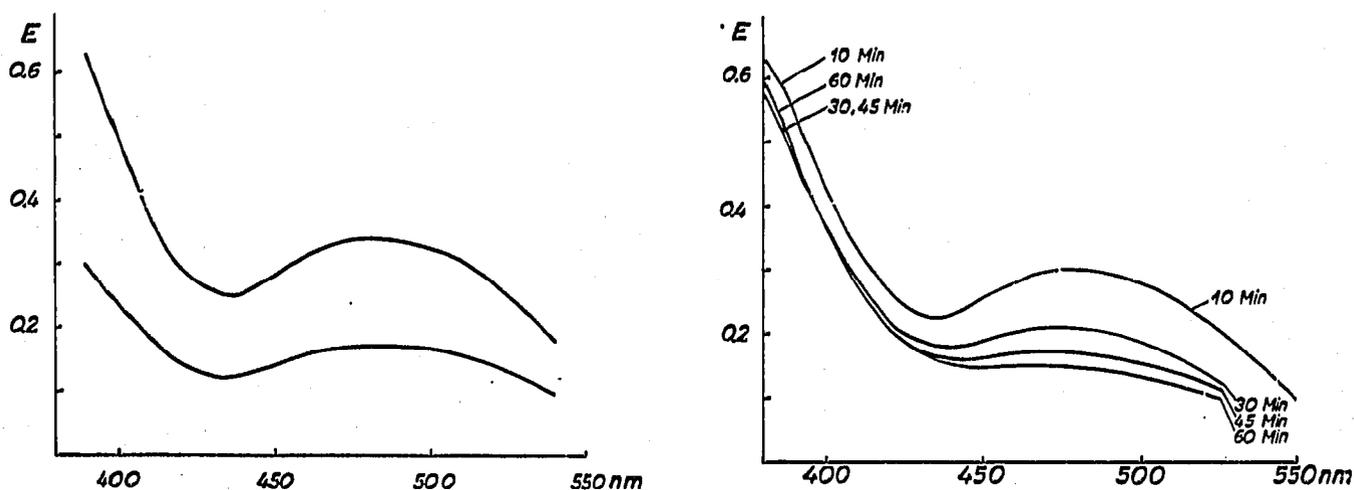


Fig. 1. Absorptionsspektrum des Atropin-jodowismutat-Eluats (obere Kurve) und des Papierleerwerteluats (untere Kurve) in Aceton (Reagens modifiziert nach TRABERT³).

Fig. 2. Zeitliche Veränderung des Atropin-jodowismutat-Absorptionsspektrums in Aceton (10-60 Min).

Das Absorptionsmaximum bei 475 nm bleicht sehr schnell aus (ca. 60 Min) und kommt deshalb für die quantitative Auswertung nicht in Betracht. Dagegen ändert sich die Extinktion bei 395-400 nm im Zeitraum 30-60 Min praktisch nicht. Diese, hinsichtlich Extinktionsdifferenz zwischen Alkaloid-jodowismutat- und Leerwerteluat einerseits, Extinktionskonstanz bei 395-400 nm im Zeitraum 30-60 Min nach Elution andererseits am Atropin erhobenen Befunde gelten entsprechend auch für andere Tropinalkaloide wie Hyoscyamin und Scopolamin. Die quantitative Analyse der Alkaloid-jodowismutat-Eluate wird demnach genauer, wenn man nicht

nach TRABERT² bei 420 nm sondern bei 395–400 nm, 30–60 Min nach Elutionsbeginn photometriert.

Unter Berücksichtigung der dargelegten Untersuchungsergebnisse lässt sich für Atropin, Hyoscyamin und Scopolamin (Datura-Alkaloide) die lineare Abhängigkeit zwischen der Konzentration der papierchromatographisch getrennten Alkaloide und der Extinktion ihrer Jodowismutat-Eluate sehr gut reproduzieren (siehe Fig. 3).

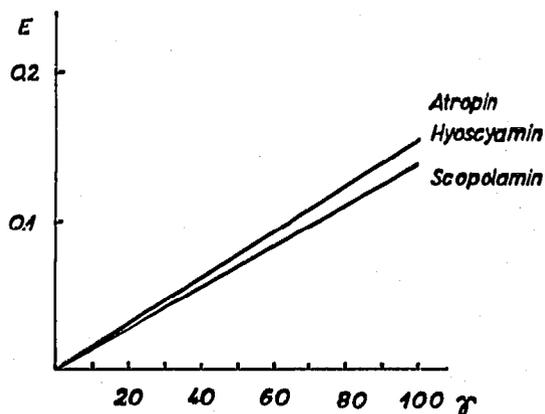


Fig. 3. Eichkurven für Atropin-, Hyoscyamin- (beide obere Gerade) und Scopolamin-jodowismutat-Eluate (untere Gerade), gemessen in Aceton, bei 400 nm, 1 cm Küvetten.

Arbeitsvorschrift für 50–100 γ Gesamtalkaloid

0.02 ml einer Tropinalkaloidlösung (0.2–0.5 % Gesamtalkaloid) werden auf Keilstreifen (Papier: Schleicher/Schüll 2043 b oder Niederschlag (Erzgeb.) FN 14) 20 Std. aufsteigend in Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) chromatographiert. Die Streifen zieht man lufttrocken durch Dragendorffs Reagens, modifiziert nach TRABERT². Zwischen mehreren Filterbogen presst man die Streifen ab und lässt über Nacht im Dunkeln trocknen. Die orange gefärbten Alkaloidzonen und eine flächenmässig gleich grosse Leerwertzone schneidet man aus, zerschnitzelt und extrahiert unter laufendem Umschütteln in schliffverstopften Reagenzgläsern mit 5 ml reinstem Aceton. Nach 15 Min giesst man die Eluate ab und photometriert etwa 15 Min später bei 395–400 nm gegen Aceton*. Die Extinktion des Leerwerteluats wird von denen der Alkaloid-Komplexeluats abgezogen.

Pharmakologisches Institut der Universität Halle-Wittenberg
(Deutschland)

KLAUS PFORDTE

1 R. MIRAM UND S. PFEIFER, *Pharm. Zentralhalle*, 96 (1957) 457.

2 H. TRABERT, *Naturwissenschaften*, 43 (1956) 351;

H. TRABERT, *Pharm. Zentralhalle*, 93 (1954) 465.

3 M. A. ROBLES, *Pharm. Weekblad*, 94 (1959) 178.

Eingegangen den 4. Oktober 1965

* Wir haben mit dem Universalspektrophotometer VSU 1 (Zeiss-Jena) in 1 cm Küvetten gemessen.