

Reaktions-Chromatographie, ein Identifizierungsverfahren für Aromaten bei der Papier- und Dünnschichtchromatographie

Bei einer Studie über die Bildung von Jodkomplexen aus Joddampf und carcinogenen, polycyclisch aromatischen Kohlenwasserstoffen (KW) auf DC-Platten und Papier konnten wir zeigen¹, dass diese Komplexe, im Gegensatz zu den Befunden von SZENT-GYÖRGYI² und EPSTEIN³ nicht wieder in die Ausgangskomponenten zerfallen, sondern hierbei über monovalente Prozesse zahlreiche Oxydationsprodukte gebildet werden. Diese "Jodreaktion" lässt sich auf alle aromatischen Systeme übertragen, deren Oxydationspotential im adsorbierten Zustand unterhalb *ca.* +0.4 V liegt. Es wurden ferner einige Reaktionen untersucht, bei denen es ebenfalls möglich war, nach der Einwirkung des Reaktanden auf die Testsubstanz im Träger, die Trägerschicht wieder leicht in den *status quo ante* zu versetzen. Am geeignetsten erwiesen sich bisher die Reaktionspartner Luftsauerstoff (bei Gegenwart der beschleunigend wirkenden Trifluoressigsäure), Ozon, Halogene, NO₂, N₂O₃, NO, SO₂, sowie BF₃ + Nitromethan.

In allen Fällen entstehen aus der Testsubstanz zahlreiche Derivate, die sich nach dem Entfernen der überschüssigen Reaktionspartner zu äusserst charakteristischen Fleckensequenzen entwickeln lassen (Figs. 1-7).

Schon KOFIED und Mitarb.⁴ berichten über die Einwirkung von Wasserstoff-superoxyd auf Phenothiazine in Kieselgelschichten. Hier sollte jedoch, im Unterschied zu unserem Verfahren, die chemische Abwandlung zu den entsprechenden Sulfoxiden lediglich eine bessere Trennung dieser Substanzklasse ermöglichen.

Die nach der Auftrennung des Reaktionschromatogramms entstandenen Flecke sind selbstverständlich weiteren konventionellen Anfärbereaktionen zugänglich, wodurch sich die Spezifität noch weiter steigern lässt. Wie aber die Fig. 1-7 zeigen, dürfte dies lediglich in Sonderfällen notwendig werden. Die Fleckenfolgen und Farben sind auch ohne Nachfärbung wesentlich charakteristischer als alle bekannten mikrochemischen Identifizierungsverfahren. Für spezielle Stoffklassen lohnt sich die Anlage eines Katalogs ihrer Reaktionschromatogramme, denn bei genauer Einhaltung der Aktivierung der Trägerschicht, der Expositionszeit, der Temperatur und der Entwicklung sind die Ergebnisse ausgezeichnet reproduzierbar. Nur Farbumschläge der Fluoreszenz in Abhängigkeit vom Feuchtigkeitsgrad der fertigen Reaktionschromatogramme können hierbei zu Täuschungen führen.

Es lässt sich ferner beobachten, dass auf Farbaufnahmen der entwickelten DC-Platten unter U.V.-Bestrahlung — hier muss ein U.V.-Filter vor das Objektiv der Kamera gebracht werden — bei einer Belichtungszeit von *ca.* 1 Min. noch weitere Farbflecke sichtbar werden, die dem unbewaffneten Auge nicht wahrnehmbar sind. Auch hierdurch erhöht sich die Differenzierbarkeit beträchtlich.

An einigen Beispielen soll im Folgenden die Universalität des Verfahrens erläutert werden:

In Fig. 1 ist die Sauerstoff- (A) und Jodoxydation (B) des α -Naphthylamins der Jodoxydation des β -Naphthylamins (C) gegenübergestellt, wobei B und C gleichen Bedingungen unterworfen waren. Während bei der normalen Dünnschichtchromatographie in dem verwendeten Laufmittel kaum ein Unterschied in den R_F -Werten der Ausgangssubstanzen (schrattierte Flecke) zu beobachten ist, liefert die Jodoxydation die erwähnten spezifischen Fleckenfolgen*. Ganz analog zeigen sich die

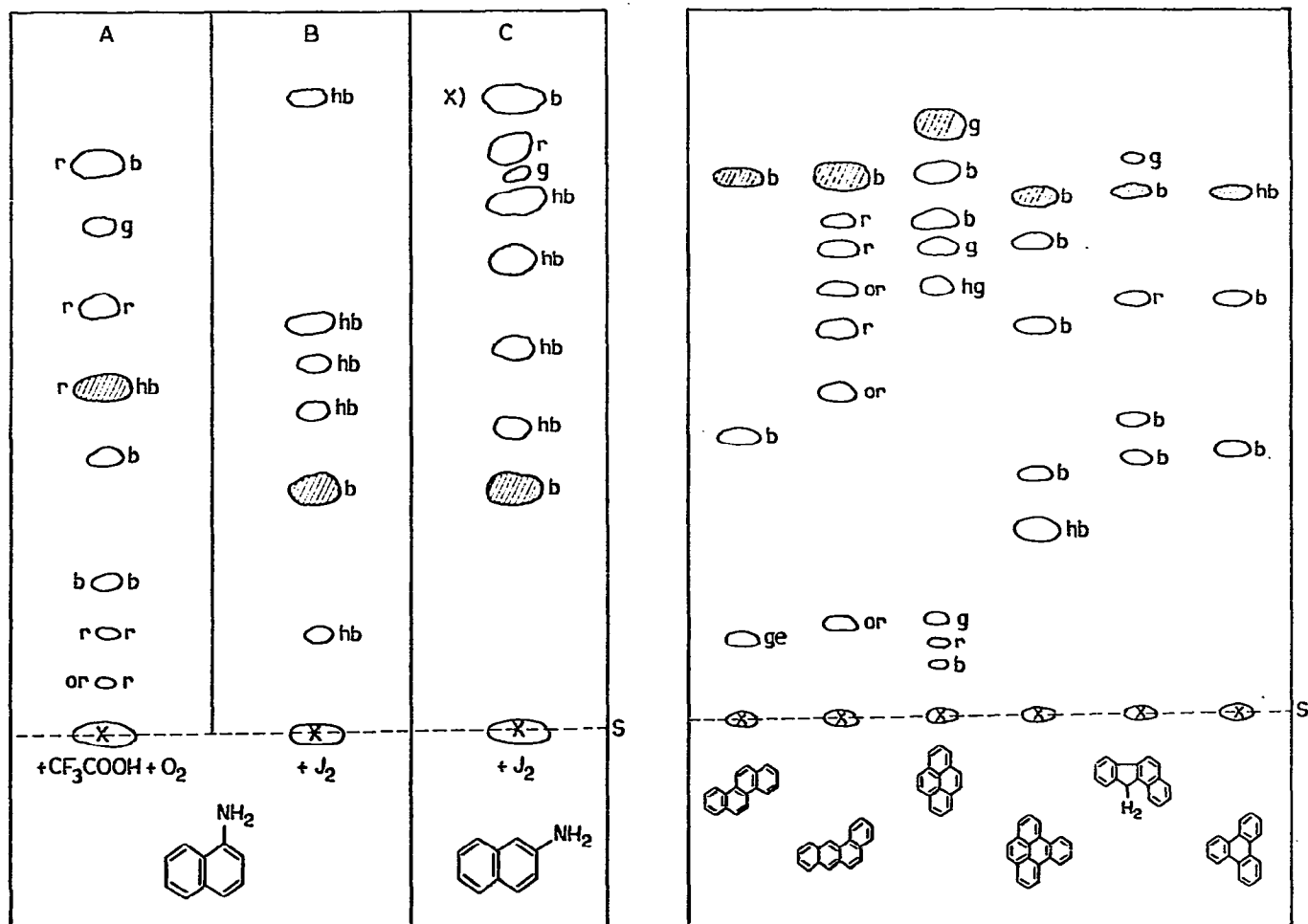


Fig. 1. Reaktionschromatogramm der Naphthylamine. (A) Oxydation durch Luftsauerstoff bei 100° und Gegenwart von Trifluoressigsäure; Dauer 10 Min. auf Kieselgel G (Merck). Laufmittel: Benzol-Methanol-Eisessig-Aceton (70:20:5:5). (B und C) "Jodreaktion" der isomeren Naphthylamine bei 20°, 30 Min., auf Kieselgel G. Laufmittel: 1 × Benzol-Methanol (95:5), 5 × *n*-Hexan. × (unter C) = 1,2,5,6-Dibenzophenazin. Abkürzungen: b = blau, bgr = blaugrau, br = braun, d = dunkel, g = grün, ge = gelb, h = hell, or = orange, r = rot. Links neben dem Fleck steht die Eigenfarbe, rechts daneben die Fluoreszenzfarbe.

Fig. 2. Reaktionschromatogramm von polycyclischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen. "Jodreaktion" bei Zimmertemperatur, 3 Std., auf Kieselgel G. Laufmittel: 6 × *n*-Hexan. Abkürzungen, vgl. Legende Fig. 1.

Verhältnisse bei der "Jodreaktion" an polycyclischen, aromatischen KW (Fig. 2), an Heterocyclen, wie den substituierten Indolen (Fig. 4), oder den Chinolinsystemen in Fig. 5. Bei den letzteren ist bemerkenswert, dass selbst ein so geringer Strukturunterschied, wie die Ringgliederzahl des ankondensierten, hydrierten Ringes, eine deutliche Abweichung der Oxydationsprodukte hervorruft. Auch bei der Gegenüberstellung von Tryptamin und Tryptophan (Fig. 6) führt das Fehlen der Carboxylfunktion bei ersterem zu deutlich unterscheidbaren Reaktionschromatogrammen.

Eine gelinde und ausserordentlich selektive Nitrierung schwer trennbarer, polycyclischer, aromatischer KW ist in Fig. 3 wiedergegeben. Hier bewirkte ein HNO_3 - N_2O_5 -Dampfgemisch in wenigen Minuten die vollständige Nitrierung von 3,4-Benzopyren. Das Chromatogramm zeigt ein Spektrum von Nitroverbindungen der beiden Benzopyrene (Chrysen wird unter diesen Bedingungen nicht angegriffen), wie sie in ihrer Selektivität und reproduzierbaren Zusammensetzung durch eine normale Lösungsnitrierung nicht zu erreichen ist. Das aufgetragene Gemisch liefert nach der Nitrierung unter gleichen Bedingungen die Summe der Flecken der Einzelkomponenten.

Nach FORBES UND SULLIVAN⁵ lassen sich für ESR-Messungen aus bestimmten Aromaten ihre Radikalkationen in 100 %-iger Ausbeute darstellen, wenn man sie mit Nitromethan (Nitrobenzol) bei Gegenwart von AlCl_3 monovalent oxydiert. Da wir wussten, dass diese Radikalkationen mit unverändertem, aromatischen KW zu Oligomeren reagieren¹, lag es nahe, auch diese Reaktion auf ihre Brauchbarkeit für die Reaktionschromatographie zu prüfen. Tatsächlich gelingt es beim 3,4-Benzopyren eine hohe Ausbeute seines Dimeren zu erhalten, wenn man die Auftragstelle einer Lösung des KW in Nitromethan (Nitrobenzol) auf der Kieselgelplatte einer ätherischen Lösung von BF_3 oder gasförmigem BF_3 aussetzt. Die Methode hat gegenüber der "Jodreaktion" den Vorteil, dass sich der Reaktandenüberschuss leichter entfernen lässt.

Beschreibung des Verfahrens

(a) *Oxydation durch Jod* ("Jodreaktion"). Auf den Boden einer lichtgeschützten Trennkammer (z.B. für Platten 20×20 cm) wird ein Schälchen mit krist. Jod gestellt und die Kammer auf ca. 20° gebracht. In den Joddampfraum wird dann die Trägerplatte (oder Papierbogen) mit dem aufgetrennten Gemisch oder den zu vergleichenden Substanzflecken eingebracht. Nach wenigen Minuten (Azulene) bis zu einigen Stunden (polycyclische, aromatische KW) ist die Oxydation abgeschlossen. Die Platte wird aus der Kammer genommen und das überschüssige Jod mit einem Haartrockner oder im belüfteten Trockenschrank bei mässig erhöhter Temperatur (ca. 60°) abgeblasen. Einen guten Verlauf der Reaktion erkennt man schon an der bleibenden Dunkel-färbung der Flecke. Hat das Trägermaterial seine ursprüngliche Farbe wiedererlangt, kann die Platte in einem geeigneten Laufmittel entwickelt werden.

(b) *Oxydation durch Luftsauerstoff*. Sie erfolgt am einfachsten durch Einstellen der Testplatten in einen Trockenschrank bei ca. 100° . Vorheriges Besprühen der Platten mit Trifluoressigsäure beschleunigt den Prozess erheblich. Nach dem Abkühlen können die Platten direkt entwickelt werden.

* Bisher gelang es nur den unter C mit (x) bezeichneten Fleck als 1,2,5,6-Dibenzophenazin zu identifizieren.

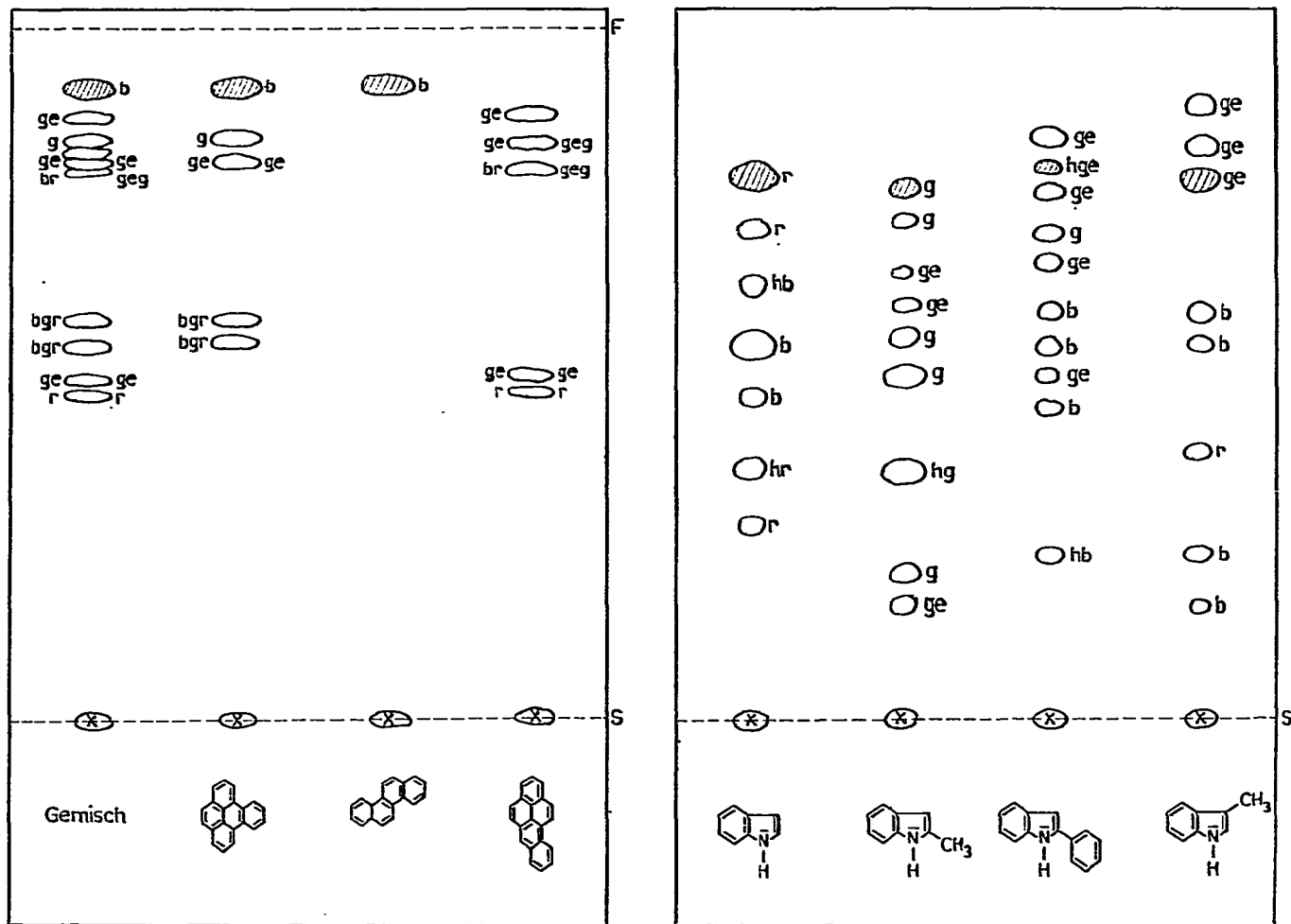


Fig. 3. Reaktionschromatogramm von 1,2- und 3,4-Benzpyren sowie Chrysen. "Nitrierungsreaktion" mit $\text{HNO}_3\text{-N}_2\text{O}_5$ -Dampf bei 20° , 5 Min., auf Kieselgel G. Laufmittel: 1 \times Benzol, 1 \times *n*-Hexan, 1 \times Benzol. Abkürzungen, vgl. Legende Fig. 1.

Fig. 4. Reaktionschromatogramm von Indolen. "Jodreaktion" bei Zimmertemperatur, 15 Min., auf Kieselgel G. Laufmittel: Benzol-Methanol (95:5). Abkürzungen, vgl. Legende Fig. 1.

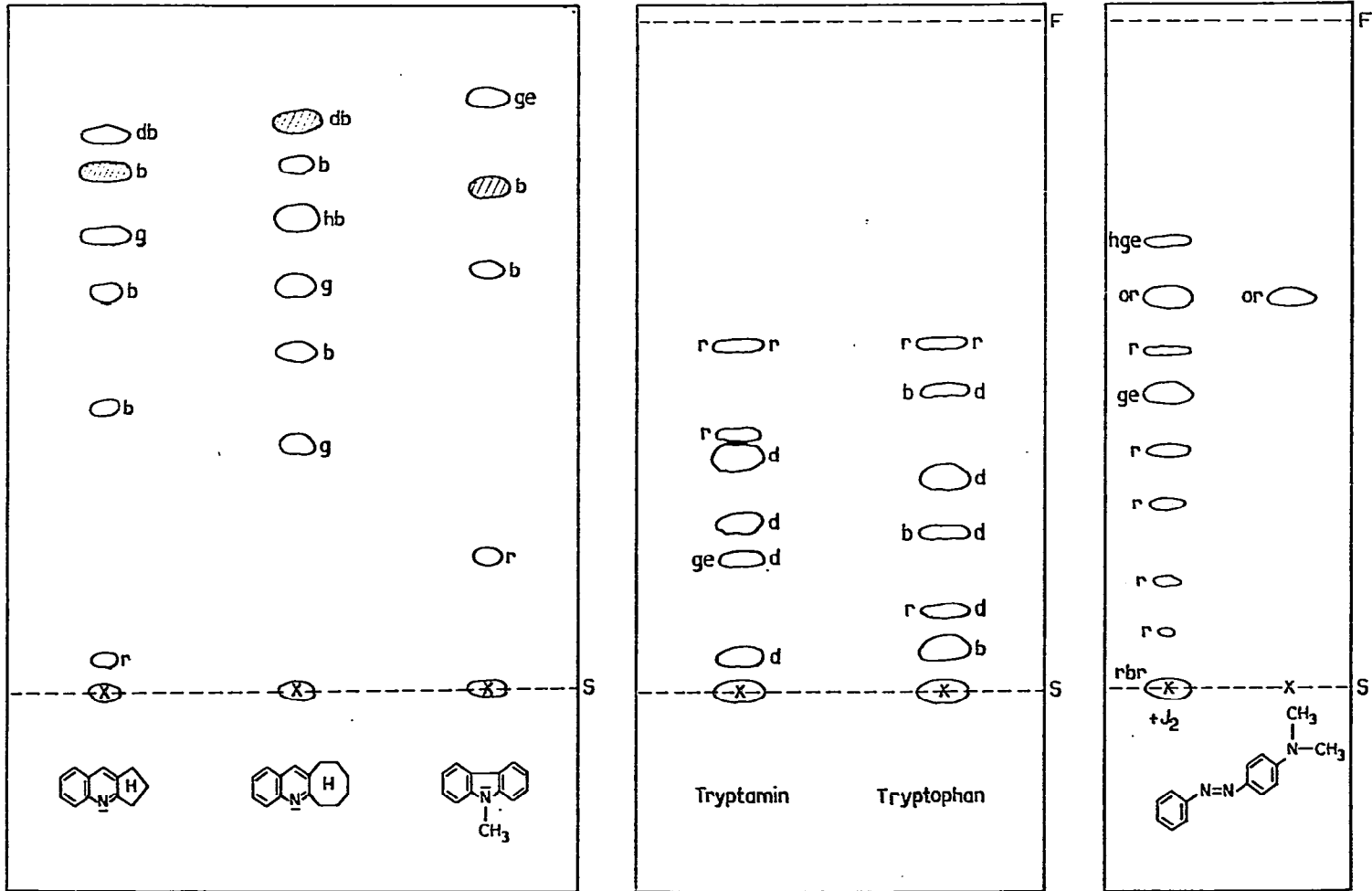


Fig. 5. Reaktionschromatogramm von Heterocyclen. "Jodreaktion" bei 20°, 3 Std., auf Kieselgel G. Laufmittel: Benzol-Methanol (95:5). Abkürzungen, vgl. Legende Fig. 1.

Fig. 6. Reaktionschromatographischer Vergleich von Tryptamin und Tryptophan. "Jodreaktion" bei 20°, 2 Std., auf Kieselgel G. Laufmittel: Benzol-Methanol-Eisessig-Aceton (70:20:5:5). Abkürzungen, vgl. Legende Fig. 1.

Fig. 7. Reaktionschromatogramm von N-Dimethylamino-(4)-azobenzol (Buttergelb). "Jodreaktion" bei 20°, 15 Min., auf Kieselgel G. Laufmittel: 1 x Benzol. Abkürzungen, vgl. Legende Fig. 1.

(c) *Oxydation durch Nitromethan + BF₃*. Die zu vergleichenden Proben werden in Nitromethan (Nitrobenzol) gelöst auf den Träger aufgetragen, oder es wird im Falle einer vorausgegangenen Trennung die Platte mit Nitromethan besprüht und anschliessend in einer Kammer BF₃-Dämpfen ausgesetzt. Nach der Oxydation wird wie unter (a) weiterbehandelt. Da die intermediär gebildeten Radialkationen auch mit Wasser und Sauerstoff reagieren, erhält man auch hier zahlreiche höhere Oxydationsprodukte (vor allem Chinone).

(d) *Einwirkung von O₃, N₂O₃, NO₂, NO, Cl₂, Br₂, SO₂, HNO₃ + N₂O₅ etc.* Hier wird eine lichtgeschützte Trennkammer wie unter (a) verwendet, deren Deckel zwei Schliffstutzen zum Ein- und Ableiten der Gase besitzt.

Die Nitrierung in Fig. 3 wurde wie folgt durchgeführt: Die Aromaten wurden in verdünnter Lösung punktwise am Start aufgetragen und das Lösungsmittel vollständig verdampft. Die Platte wurde dann in eine Kammer gestellt, welche ein Schälchen mit P₂O₅ enthielt. Hierauf liessen wir durch den durchbohrten Kammerdeckel aus einem Tropftrichter 2–3 ml konzentrierte HNO₃ tropfen. Die entstehenden HNO₃ + N₂O₅-Dämpfe nitrieren reaktionsfähige Aromaten sofort, sodass die Reaktion schon in 10 Min. beendet ist. Anschliessend muss die Platte gut von anhaftenden, sauren Gasen befreit werden.

(e) *Einwirkung von Licht*. Sonnenlicht und U.V.-Lampen sind gleichermassen geeignet, um charakteristische, photochemische Abwandlungen der Ausgangsstoffe hervorzurufen. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen empfehlen sich U.V.-Lampen konstanter Helligkeit oder elektronische Photoblitzlampen, die wiederholt einwirken, bis der gewünschte Umsatz erfolgt ist. Auch hier geben Verfärbungen der aufgetragenen Substanzen einen Anhalt über den Fortgang der Reaktion.

Dank

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie danken wir vielmals für die Bereitstellung von Sachbeihilfen.

*Institut für Organische Chemie der Universität,
Frankfurt/Main (Deutschland)*

M. WILK
U. HOPPE
W. TAUPP
J. ROCHLITZ

- 1 M. WILK, W. BEZ UND J. ROCHLITZ, *Tetrahedron*, 22 (1966) 2599.
- 2 A. SZENT-GYÖRGYI UND I. ISENBERG, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 46 (1960) 1444.
- 3 S. S. EPSTEIN, I. BULON, J. KOPLAN, M. SMALL UND N. MANTEL, *Nature*, 204 (1964) 750.
- 4 J. KOFIED, C. KARZAK-FABIERKIEWICZ UND G. H. W. LUCAS, *Nature*, 211 (1966) 147.
- 5 W. F. FORBES UND P. D. SULLIVAN, *J. Am. Chem. Soc.*, 88 (1966) 2862.

Eingegangen den 9. September 1966

J. Chromatog., 27 (1967) 311–316