

CHROM. 3804

ZUR TRENNUNG VON ALKYLPIRIDINGEMISCHEN

III. PAPIERCHROMATOGRAPHIE DER ALKYLPIRIDINE

SIEGFRIED NEUHÄUSER UND FRIEDRICH WOLF

Institut für Technische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und Abteilung Forschung und Entwicklung des VEB Farbenfabrik Wolfen (D.D.R.)

(Eingegangen am 28. August 1968; geänderte Fassung am 23. September 1968)

SUMMARY

The separation of alkylpyridine mixtures. III. Paper chromatography of alkylpyridines

Paper chromatography of pyridine bases was carried out in one-dimensional systems consisting of lower alcohols, water and hydrochloric acid. With help of R_M values it was possible to indicate the relationships between the chromatographic behaviour and the structure of the pyridine bases studied. In addition, qualitative results were obtained confirming the solvability of the hydrochloric acid derivatives of pyridine bases in various alcohols. These results were of great use in the choice of suitable solvents for separation of the hydrochloric acid derivatives of pyridine bases.

BISHERIGE ARBEITEN ZUR PAPIERCHROMATOGRAPHIE DER ALKYLPIRIDINE

Während für die Trennung und Identifizierung von Pyridinderivaten in Naturstoffen und von Pyridincarbonsäuren gute Methoden bekannt sind, gibt es weniger Arbeiten zur Papierchromatographie der freien Basen bzw. ihrer einfachen Derivate.

Wegen der relativ grossen Flüchtigkeit der Pyridinbasen ist der Zusatz eines sauren Bestandteiles im Laufmittel erforderlich¹⁻⁸. Die Lösungsmittelsysteme bestehen meist aus Alkoholen oder Ketonen und Wasser, wobei Systeme aus Alkohol und Wasser bei Zusatz von Mineralsäuren besser geeignet sind als bei Verwendung aliphatischer Carbonsäuren⁸.

Der Nachweis der einzelnen Substanzen einer Klasse bereitet erhebliche Schwierigkeiten².

Um die Flüchtigkeit der Basen zu senken, können diese in die entsprechenden N-Methyl-pyridiniumjodide überführt und anschliessend getrennt werden^{8,9}.

Darüber hinaus benutzte BAUDET¹⁰ die Fähigkeit der Pyridinbasen, mit Kupfersalzen (CuCl_2 in wässr. Glycerin) verschieden gefärbte Komplexe zu bilden. Aus der Grösse der Flecken können 3-Picolin und 2,6-Lutidin mit einer Genauigkeit von 2 bis 5% ermittelt werden¹¹. Das Verfahren hat sich auch bei der Analyse weiterer Basen bewährt^{12,13}.

Es besteht auch die Möglichkeit, statt der freien Basen deren N-Oxide^{14,15} oder nach Oxydation die entsprechenden Pyridincarbonsäuren zu trennen^{2,16,17}.

Die gebräuchlichste Nachweismethode ist die Zincke-König'sche Reaktion mit Brom- oder Chlorcyan und aromatischen Aminen^{18,19}. Letztere konnten mit Erfolg durch Barbitursäure²⁰ bzw. primäre Diamide²¹ ersetzt werden.

Weitere Nachweismethoden sind die Reaktion mit Dragendorff-Reagens^{3,22}, die Einwirkung von dichlorfluoresceinsensibilisierter 0.1 N alkoholischer Silbernitratlösung⁹, Quecksilberdampf und anschliessendes Besprühen mit 1%iger Naphthylaminhydrochloridlösung⁵, Einwirkung von Joddämpfen⁸ oder 0.1 N KJ/J₂-Lösung⁴.

AUFGABENSTELLUNG

Wie die Literatur zeigt, bieten Alkohol-Wasser-Systeme unter Zusatz von Salzsäure die Möglichkeit, Alkylpyridine schnell und ohne zusätzliche Operation zu trennen. Es bestanden in diesem Zusammenhang folgende Aufgaben:

- (1) Modifizierung der Methode mit dem Ziel, Gemische verschiedener Herkunft und Zusammensetzung zu trennen und nachzuweisen.
- (2) Auf Grund der R_F -Werte sollten Aussagen über die Brauchbarkeit der Lösungsmittel zur Ausfällung der Pyridinbasen-Hydrochloride gewonnen werden.
- (3) Untersuchung von Zusammenhängen zwischen Konstitution und papierchromatographischem Verhalten der Pyridinbasen.

METHODIK UND DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE

Es wurden die in der Tabelle I angeführten Lösungsmittelsysteme verwendet. Die Mengen sind in Volumenteilen (VT) angegeben.

Es wurde absteigend mit dem Papier FN 14 der Firma VEB Niederschlag chromatographiert. Die Temperatur betrug 23–24°. Die reinen Basen lagen in einer methanolisch-salzsäuren Lösung vor (1 ml Methanol, 0.013 ml 36.8%ige Salzsäure und 0.01 ml Pyridinbase). Davon wurden jeweils 0.01 ml in Form runder Flecken von etwa 1 cm Durchmesser aufgetragen.

TABELLE I

VERWENDETE LÖSUNGSMITTELSYSTEME

| Bezeichnung | System | Zusammensetzung (VT) |
|-------------|--|----------------------|
| S 1 | Äthanol-Salzsäure | 20:1 |
| S 2 | Äthanol-Salzsäure-Wasser | 20:1:2 |
| S 3 | Äthanol-Salzsäure-Wasser | 20:1:5 |
| S 4 | n-Propanol-Salzsäure-Wasser | 20:1:2 |
| S 5 | Isopropanol-Salzsäure-Wasser | 20:1:2 |
| S 6 | 5%ige n-Butanol-Salzsäure/Wasserdampf-atmosphäre | — |
| S 7 | n-Butanol-Salzsäure-Wasser | 20:1:2 |
| S 8 | Isobutanol-Salzsäure-Wasser | 20:1:2 |
| S 9 | Isoamylalkohol-Salzsäure-Wasser | 20:1:2 ^a |

^a Das System entmischt sich bei 23°. Als Laufmittel diente die alkoholische Phase. Die wässrige Phase wurde zur Sättigung der Atmosphäre benutzt.

Zur Detektion der entwickelten Chromatogramme diente das Dragendorff-Reagens²¹. Die R_F -Werte wurden aus mindestens sieben Einzelmesswerten ermittelt.

DISKUSSION

Der Einfluss der Stellung der Alkylgruppe im Pyridinring auf den R_F -Wert

Die R_F -Werte für die verschiedenen Pyridinbasen und Lösungsmittelgemische zeigt Tabelle II.

TABELLE II

R_F -WERTE DER PYRIDINBASEN BEI VERWENDUNG VERSCHIEDENER LÖSUNGSMITTELSYSTEME

| Substanz | Lösungsmittelsysteme | | | | | | | | |
|-------------------------|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | S 1 | S 2 | S 3 | S 4 | S 5 | S 6 | S 7 | S 8 | S 9 |
| Pyridin | 0.18 | 0.31 | 0.52 | 0.20 | 0.20 | 0.19 | 0.12 | 0.11 | 0.05 |
| 2-Picolin | 0.38 | 0.51 | 0.65 | 0.37 | 0.35 | 0.33 | 0.23 | 0.20 | 0.11 |
| 3-Picolin | 0.25 | 0.40 | 0.58 | 0.29 | 0.29 | 0.29 | 0.20 | 0.18 | 0.10 |
| 4-Picolin | 0.23 | 0.38 | 0.57 | 0.28 | 0.27 | 0.28 | 0.21 | 0.16 | 0.09 |
| 2,3-Lutidin | 0.45 | 0.58 | 0.70 | 0.45 | 0.42 | 0.42 | 0.30 | 0.28 | 0.16 |
| 2,4-Lutidin | 0.48 | 0.61 | 0.72 | 0.48 | 0.45 | 0.46 | 0.33 | 0.31 | 0.18 |
| 2,5-Lutidin | 0.50 | 0.63 | 0.74 | 0.49 | 0.48 | 0.49 | 0.35 | 0.32 | 0.19 |
| 2,6-Lutidin | 0.53 | 0.64 | 0.75 | 0.49 | 0.45 | 0.46 | 0.33 | 0.29 | 0.17 |
| 3,5-Lutidin | 0.35 | 0.51 | 0.67 | 0.41 | 0.37 | 0.46 | 0.30 | 0.27 | 0.17 |
| 2-Äthylpyridin | 0.48 | 0.61 | 0.72 | 0.50 | 0.48 | 0.51 | 0.36 | 0.33 | 0.19 |
| 3-Äthylpyridin | 0.34 | 0.50 | 0.66 | 0.42 | 0.39 | 0.45 | 0.31 | 0.29 | 0.18 |
| 4-Äthylpyridin | 0.28 | 0.44 | 0.64 | 0.37 | 0.34 | 0.40 | 0.27 | 0.25 | 0.16 |
| 2,3,6-Kollidin | 0.61 | 0.70 | 0.78 | 0.57 | 0.53 | 0.55 | 0.42 | 0.40 | 0.23 |
| 2,4,6-Kollidin | 0.66 | 0.73 | 0.78 | 0.61 | 0.56 | 0.59 | 0.46 | 0.44 | 0.26 |
| 2-Methyl-5-äthylpyridin | 0.61 | 0.70 | 0.79 | 0.64 | 0.60 | 0.65 | 0.49 | 0.48 | 0.32 |
| W (cm/h) ^a | 2.82 | 4.08 | 3.81 | 2.90 | 2.45 | — | — | 1.85 | 2.05 |
| ΔR_F | 0.48 | 0.42 | 0.27 | 0.44 | 0.40 | 0.46 | 0.37 | 0.37 | 0.27 |

^a W = Wanderungsgeschwindigkeit (cm/h).

Ein Vergleich der Monomethylpyridine und der Äthylpyridine lässt erkennen, dass Alkylgruppen in 2-Stellung eine Erhöhung des R_F -Wertes bewirken. Die R_F -Werte stufen sich in der Reihenfolge ab:

2- > 3- > 4-Stellung der monosubstituierten Pyridine

Ein anderes Verhalten zeigen jedoch Pyridinbasen mit zwei und mehr Alkylgruppen. Hier bewirkt ein Alkylrest in 4-Stellung einen höheren R_F -Wert als in 3-Stellung. Es ergibt sich folgende Abstufung:

2,4,6-Kollidin > 2,3,6-Kollidin > 2,6-Lutidin > 2,4-Lutidin > 2,3-Lutidin

3,5-Lutidin mit zwei Methylgruppen in 3-Stellung besitzt den niedrigsten R_F -Wert.

Die Einführung einer zweiten Alkylgruppe in Nachbarstellung zum Stickstoffatom bewirkt die grösste R_F -Wert-Steigerung:



Somit ergibt sich folgende R_F -Wert-Abstufung für Lutidine und Kollidine:
2- > 4- > 3-Stellung

Die Abhängigkeit der R_F -Werte innerhalb einer homologen Reihe

Nach Lit. 22 soll der R_F -Wert additiv aus Konstanten für die jeweiligen Gruppen des Moleküls bestimmbar sein.

Durch diese Art der Summation ergeben sich jedoch Werte > 1 bzw. < 0 , die der Definition des R_F -Wertes nicht entsprechen.

Daher wurde geprüft, ob zwischen den R_M -Werten²³ einer homologen Reihe von Pyridinverbindungen und der Anzahl der einzelnen Atomgruppen im Molekül eine lineare Abhängigkeit besteht.

R_F -Werte nach der Literatur⁸ wurden von uns nach der Definition von REICHL²³ mit ausgewertet (Fig. 1). Die R_M -Werte einer homologen Reihe der Alkylpyridine

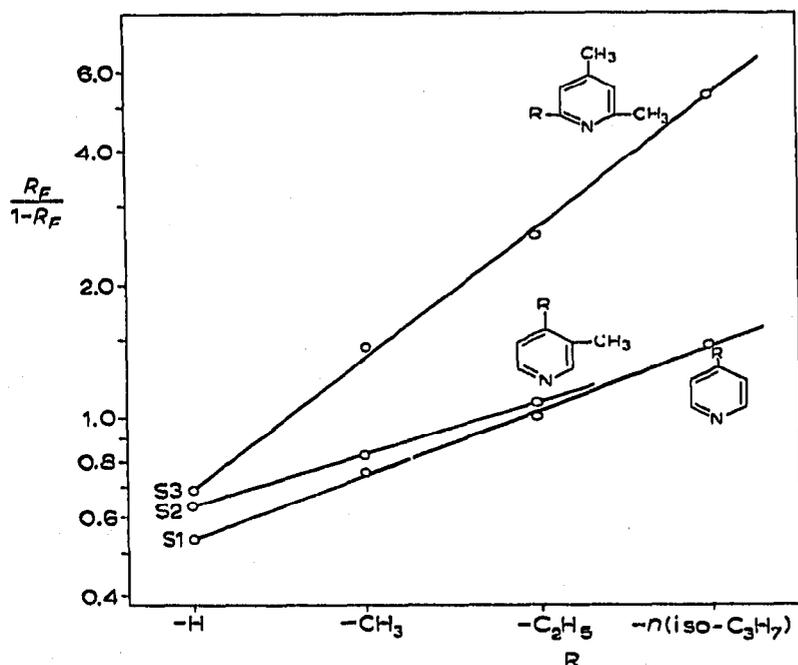


Fig. 1. Abhängigkeit der R_M -Werte homologer Alkylpyridine⁸. Laufmittel: S₁ = Äthanol-Salzsäure-Wasser (20:1:2); S₂ = *n*-Propanol-Salzsäure-Wasser (20:1:2); S₃ = Isopropanol-Salzsäure-Wasser (20:1:2).

nehmen mit der Zahl der Alkylgruppen linear zu. Durch die Verlängerung des Alkylrestes werden die ursprünglich vorwiegend hydrophilen Eigenschaften der Pyridinbasen zurückgedrängt, so dass höhere R_F -Werte resultieren. Analoge Beziehungen konnten auch bei dünn-schicht-chromatographischer Trennung der Substanzen festgestellt werden²⁴.

Die Additivitätsregel wird nicht erfüllt sein, wenn die Substituenten nicht

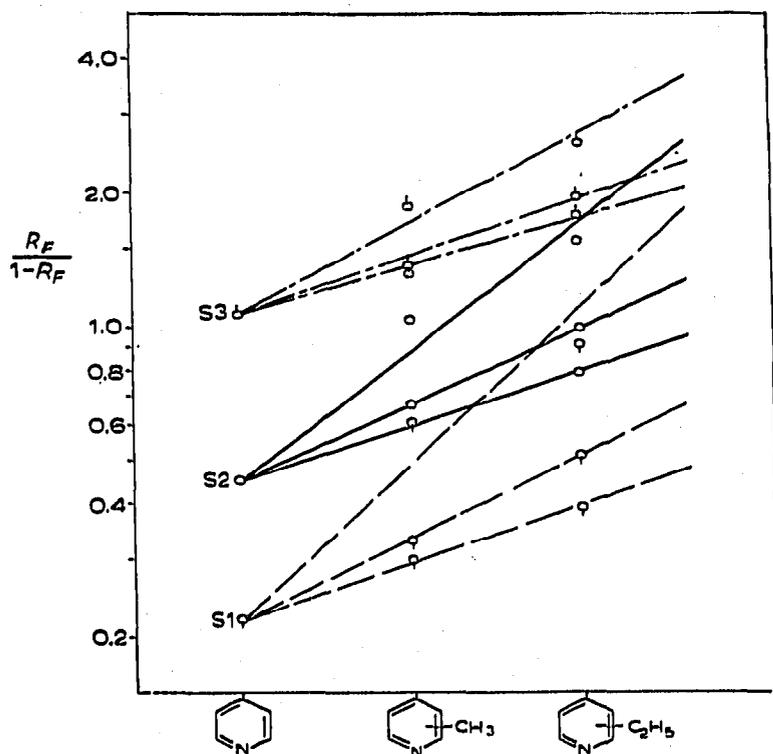


Fig. 2. Abhängigkeit der R_M -Werte vom Wassergehalt des Laufmittels. Äthanol-konz. Salzsäure-Wasser (VI): S 1, 20:1; S 2, 20:1:2; S 3, 20:1:5.

mehr als unabhängig voneinander zu betrachten sind. In der Reihe Pyridin, 2-Methylpyridin, 2-Äthylpyridin ist durch die Nachbarstellung der Alkylgruppe zum Ringstickstoffatom eine gegenseitige Beeinflussung zu erwarten. Dies bestätigen die Fig. 2 und 3.

Bei der Substitution in 3- und 4-Stellung ist die genannte Additivität wieder gewahrt.

Gleiche Verhältnisse finden wir bei einem Vergleich des chromatographischen Verhaltens der Methylpyridine innerhalb eines Lösungsmittelsystems entsprechend der Tabelle II. Pyridin besitzt in fast allen Laufsystemen einen negativen R_M -Wert, löst sich also bevorzugt in der stationären wässrigen Phase. Bei Einführung von Methylgruppen in den Pyridinkern treten die lipophilen Eigenschaften deutlicher hervor und der R_M -Wert wird grösser als 1, was einer günstigeren Löslichkeit in der mobilen Phase entspricht. Die R_M -Werte nehmen in folgender Reihe zu:



Eine ähnliche Abstufung geben IKEKAWA *et al.*²⁵ für die Abhängigkeit der Ionisationskonstante von der Anzahl der Methylgruppen bei den Methylpyridinen an.

Die Abhängigkeit des R_F -Wertes vom Wassergehalt des Lösungsmittelsystems

An Hand der Lösungsmittelsysteme S 1–S 3 sollte die Wirkung des Wassers auf den R_F -Wert ermittelt werden.

Dazu definierten wir eine Wanderungsgeschwindigkeit W , die den Laufweg des

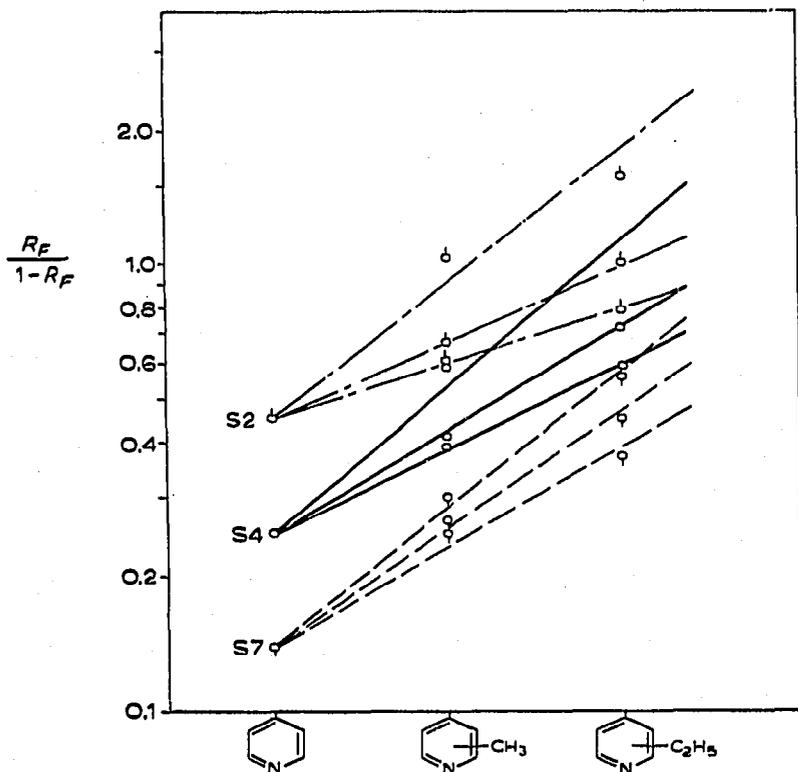


Fig. 3. Abhängigkeit der R_M -Werte bei Verwendung verschiedener n -Alkohole im Laufmittel n -Alkohol-konz. Salzsäure-Wasser (20:1:2) (VT).

Lösungsmittels von der Startfront in der Zeiteinheit angibt. Mit steigendem Wassergehalt tritt eine Erhöhung der Wanderungsgeschwindigkeit ein, die nach Durchlaufen eines Maximums bei S 2 nach weiterem Wasserzusatz wieder absinkt (Tabelle II). In der Literatur werden ähnliche, jedoch gegenläufige Beobachtungen im Falle von Aminosäuren mitgeteilt²⁰.

Die R_F -Werte selbst erhöhen sich durch einen Wasserzusatz (Tabelle II). Dieser Einfluss macht sich bei niederen R_F -Werten mehr bemerkbar als bei höheren. Niedere Alkylpyridine lösen sich in Wasser besser als höhere, so dass ein erhöhter Wasseranteil in der mobilen Phase erhöhte R_F -Werte bewirkt. Aus dieser R_F -Wertverschiebung resultiert eine Verkleinerung des ΔR_F und damit eine schlechtere Trennung der Basen. Ausdruck findet diese Feststellung in der Fig. 2. Der Anstieg der Geraden einer homologen Reihe nimmt von S 1 nach S 3 ab, obwohl die Absolutwerte von R_M in den gleichen Systemen ansteigen.

Insgesamt lässt sich feststellen: Die Chromatographie im wasserfreien bzw. mit einer nicht ausreichenden Wassermenge im Lösungsmittel liefert langgestreckte, nicht auswertbare Flecken. Mit zunehmendem Wasserzusatz werden die Flecken nahezu kreisrund, wobei eine Verschiebung zu höheren R_F -Werten eintritt und ΔR_F sich verkleinert. Optimale Laufmittel stellen etwa die Systeme S 2, S 4, S 5 und S 6 dar.

Die Abhängigkeit des R_F -Wertes von den verwendeten Alkoholen

In der Reihe der unverzweigten Alkohole tritt mit deren wachsender Kettenlänge eine Verkleinerung des R_M -Wertes ein (Fig. 3). Bei Ersatz der n -Alkohole durch

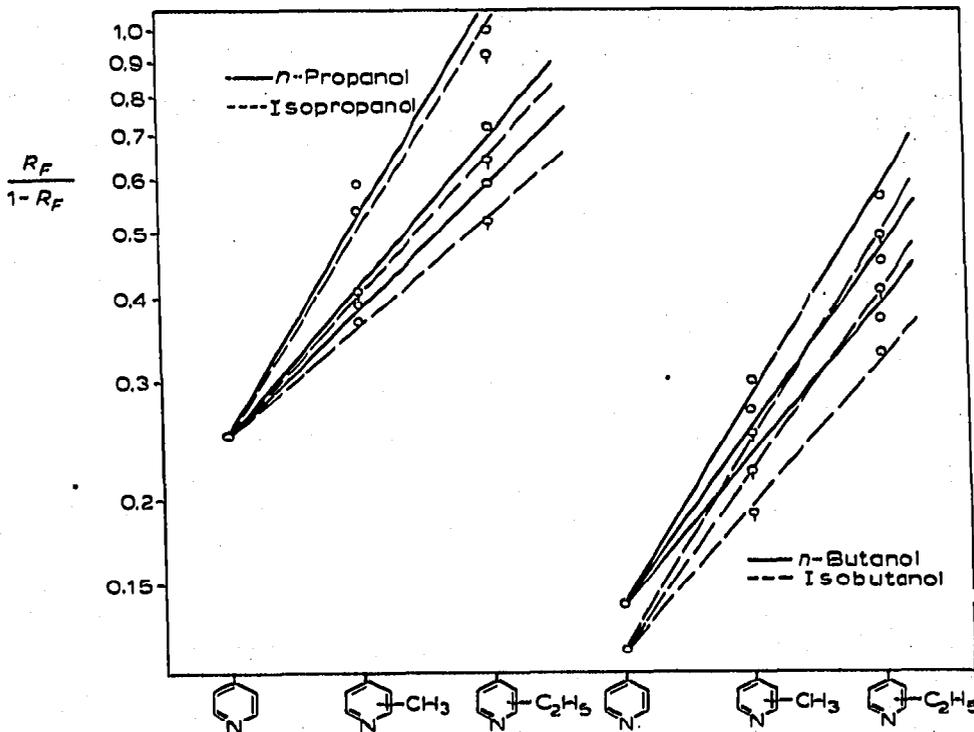


Fig. 4. Abhängigkeit der R_M -Werte bei Verwendung isomerer Alkohole im Laufmittel Alkohol-konz. Salzsäure-Wasser (20:1:2).

die iso-Alkohole resultieren kleinere R_F -Werte. Diese Abhängigkeit gibt Fig. 4 für die Propanole und Butanole wieder. Da in den betrachteten Systemen gleiche Wassermengen Verwendung fanden, kann das Absinken der R_F -Werte nur durch eine Verminderung der Löslichkeit der Pyridinbasenhydrochloride in dem betreffenden Alkohol gedeutet werden.

Mit diesem Ergebnis und anhand der R_F -Werte der Tabelle II können Aussagen über die Eignung eines Alkohols als Lösungsmittel bei der Gewinnung der Pyridinbasenhydrochloride getroffen werden.

Zusammenfassend ergeben sich folgende Feststellungen:

(1) Die Löslichkeit der Pyridinbasenhydrochloride in aliphatischen Alkoholen nimmt mit wachsender Grösse der letzteren ab. Die geringste Löslichkeit ist im Isoamylalkohol zu verzeichnen, die beste in Äthanol.

(2) Isoalkohole weisen eine geringere Löslichkeit als normale Alkohole auf. Diese Feststellung deckt sich mit der von ANDO²⁷.

(3) Auf Grund der Forderungen, die an derartige Lösungsmittel gestellt werden²⁸, bietet *n*-Butanol gute Voraussetzungen für die Verwendung als Lösungsmittel bei der Fällung der Pyridinbasenhydrochloride.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Papierchromatographie der Pyridinbasen erfolgte in einphasigen Systemen aus niederen Alkoholen, Wasser und Salzsäure. Unter Verwendung des R_M -Wertes war es möglich, Beziehungen zwischen dem chromatographischen Verhalten und der

Konstitution der untersuchten Pyridinbasen aufzuzeigen. Darüber hinaus ergaben sich qualitative Aussagen über die Löslichkeit der Pyridinbasenhydrochloride in verschiedenen Alkoholen. Die Ergebnisse dienen der Auswahl von geeigneten Lösungsmitteln für die Trennung der Pyridinbasen über ihre Hydrochloride.

LITERATUR

- 1 W. R. WALKER, *Australian J. Sci.*, 13 (1950) 26, 84.
- 2 F. KUFFNER UND N. FADERL, *Monatsh. Chem.*, 86 (1955) 995.
- 3 W. FUNASAKA UND T. KOJIMA, *J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Sect.*, 60 (1957) 427.
- 4 J. BRANDSCH, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 9 (1958) 334.
- 5 R. PILLERI, *Rass. Chim.*, 12 (1960) 26; 16 (1964) 183.
- 6 K. THEWALT, *Brennstoff-Chem.*, 40 (1959) 88.
- 7 V. A. KOSTYUK, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Tekhn. Nauk*, 3 (1960) 146.
- 8 V. GALIK UND S. LANDA, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 29 (1964) 2562.
- 9 A. KABIL UND V. PREY, *Monatsh. Chem.*, 89 (1958) 497.
- 10 J. BAUDET, *Compt. Rend.*, 234 (1952) 2454.
- 11 JU. I. TSCHUMAKOW, *Med. Prom. UdSSR*, 13 (1959) 14.
- 12 JU. I. TSCHUMAKOW, JE. JE. TSCHERNJACHOWSKAJA, M. N. FILIPOWITSCH, W. M. LEDOWSKICH, S. P. WASSILJUVA UND E. W. LUGOWSKOI, *UdSSR Pat.*, 161 750/3 (1964).
- 13 JU. I. TSCHUMAKOW UND M. N. FILIPPOVIC, *J. Anal. Chem. (UdSSR)*, 20 (1965) 856.
- 14 D. JERCHEL UND W. JACOBS, *Angew. Chem.*, 66 (1954) 298.
- 15 E. LEIBNITZ, K. NAUMANN UND C.-M. HILLER, *Chem. Tech. (Berlin)*, 10 (1958) 82.
- 16 D. JERCHEL UND W. JACOBS, *Angew. Chem.*, 65 (1953) 342.
- 17 T. HASHIZUME, *Nature*, 173 (1954) 645.
- 18 E. ASMUS UND H. GARSCHAGEN, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 139 (1953) 81.
- 19 E. ASMUS UND H. F. KURANDT, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 149 (1956) 3.
- 20 W. NIELSON UND L. GIEFFER, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 171 (1960) 401.
- 21 B. P. LISBOA, *Naturwiss.*, 44 (1957) 618.
- 22 I. M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1958.
- 23 E. R. REICHL, *Monatsh. Chem.*, 86 (1955) 69.
- 24 H.-J. PETROWITZ, G. PASTUSKA UND S. WAGNER, *Chemiker-Ztg.*, 89 (1965) 7; *ibid.*, *Chimia (Aarau)*, 18 (1964) 137.
- 25 N. IKEKAWA, Y. SATO UND T. MAEDA, *Pharm. Bull. (Tokyo)*, 2 (1954) 205.
- 26 H. K. SCHAUER UND R. BULIRSCH, *Z. Naturforsch.*, 10b (1955) 683.
- 27 H. ANDO, *Coal Tar*, 4 (1952) 289.
- 28 S. NEUHÄUSER UND F. WOLF, Veröffentlichung in Vorbereitung.

J. Chromatog., 39 (1969) 53-60