

CHROM. 4454

## STUDIUM DER STABILITÄT DES KOMPLEXES ZWISCHEN JOD UND DEM TERTIÄREN STICKSTOFF DER DÜNNSCHICHT-CHROMATOGRAPHISCH GETRENNTEN STOFFE MITTELS INFRAROTER SPEKTROSKOPIE

M. ŠARŠŮNOVÁ, B. KAKÁČ UND L. KRASNEC

*Laboratorium für Arzneimittelanalyse, Bratislava; Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie, Prag und Pharmazeutische Fakultät, Bratislava (Tschechoslowakei)*

---

### SUMMARY

*Study of the stability of iodine and tertiary-bound nitrogen complexes in substances separated by thin-layer chromatography, by means of infrared spectroscopy*

In our experimental work we have studied, by infrared spectroscopy, the influence of iodine used for detection of substances separated on thin layers. We examined the stability of the complexes formed by addition of iodine on the tertiary-bound nitrogen in the molecule of the substances detected in this way. We also examined complexes formed by this detection procedure in the case of strychnos and opium alkaloids, pyrazolone and phenothiazine derivatives, sulphonamides and other compounds. The results of this study were in agreement with the results obtained after quantitative estimation of substances separated on thin layers.

---

### EINLEITUNG

Bei quantitativer Bestimmung der dünn-schichtchromatographisch getrennten Substanzen gibt es mehrere Faktoren, welche die exakte Reproduzierbarkeit und Ausbeute dieser Methode beeinflussen.

Wenn auch viele Erfahrungen von quantitativer Auswertung der mittels Papierchromatographie getrennten Stoffe auch auf die quantitative Bestimmung der dünn-schichtchromatographisch getrennten Stoffe übertragen werden können, muss man dennoch die unterschiedlichen Eigenschaften des Papiers und des in Dünnschichtchromatographie benützten Sorbenten in Betracht nehmen. Einer der wichtigsten Faktoren, welche die Genauigkeit und Ausbeute nach chromatographischer Trennung beeinflusst, ist die erwähnte Art von Detektion. Am vorteilhaftesten ist der Beweis der isolierten Stoffe mittels ihrer eigenen Färbung oder Fluoreszenz. Aus den Detektionsreagentien, welche zu diesem Zwecke verwendet werden, sind nur diejenigen zur quantitativen Auswertung der so sichtbargemachten Substanzen geeignet, die keine Änderung oder Destruktion der Stoffe verursachen.

In der Praxis werden oft Joddämpfe als Detektionsmittel benützt. Zur Bestimmung der entstandenen gelben Flecke nach mechanischer Bezeichnung wird das Jod aus den Schichten durch Sublimation bei erhöhter Temperatur beseitigt.

Diese Art des Nachweises mit darauf folgender quantitativer Auswertung benützten mehrere Autoren<sup>1-9</sup>. Die Resultate dieser Bestimmungen waren nicht eindeutig, jedenfalls wurden die Fehler der Bestimmungen dem üblichen Fehler der Mikromethoden und nicht der erwähnten Art von Detektion zugeschrieben.

In unseren Arbeiten, die sich mit quantitativer photometrischer<sup>10-13</sup>, spektrophotometrischer oder radiometrischer<sup>14</sup> Bestimmung der Stoffe nach ihrer Trennung auf losen Aluminiumoxidschichten befassten, haben wir diese durch Joddämpfe oder mittels angesäuerter Jod-Jodidlösung, bzw. im UV Licht sichtbar gemacht. Der Einfluss der Detektion auf Reproduzierbarkeit der Resultate, wie auch auf ihre Ausbeute, wurde experimentell untersucht.

In dieser Arbeit haben wir uns dem Studium der Stabilität der Additionsverbindungen der Stoffe, die mittels Joddämpfe sichtbar gemacht wurden, wie auch der Beeinflussung der Molekül der von uns untersuchten Stoffe mit verwandter chemischer Struktur, gewidmet. Wir studierten mittels IR Spektroskopie den Einfluss der sterischen Verhältnisse in der Molekül dieser Stoffe auf die Stabilität der so entstehenden Additionsverbindungen. Zu dieser Untersuchung wählten wir strukturell ähnliche Stoffe um aus unseren Experimenten allgemein gültige Folgerungen ziehen zu können.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

##### *Chemikalien und Reagentien*

Es wurde Aluminiumoxid p.a. Lachema ČSN 685131, Kerngrösse 0.075 mm, pH Wert 8.6, benutzt. Die  $R_F$ -Werte der Azofarbstoffe waren: Azobenzol, 0.70; *p*-Methoxyazobenzol, 0.45; Sudangelb, 0.17; Sudanrot, 0.08. Chemikalien und Lösungsmittel waren von p.a. Qualität. Das benutzte Äthanol war 99.5%, das Chloroform war wasser- und alkoholfrei.

##### *Apparatur und Einrichtungen*

Wir haben die bei Dünnschichtchromatographie auf losen Aluminiumoxidschichten üblich gebrauchten Einrichtungen<sup>15,16</sup> benützt.

Die Detektion wurde durch Joddämpfe, angesäuerte Jod-Jodidlösung oder im UV-Lichte bei 254 nm unter der Desaga UVIS-Lampe durchgeführt. Die IR-Spektroskopie wurde mit dem Geräte UR-10, VEB Carl Zeiss, Jena, durchgeführt.

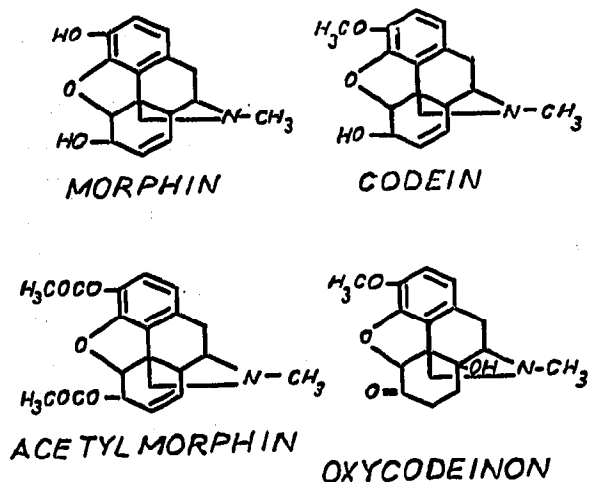
##### *Arbeitsweise*

*Dünnschichtchromatographie.* Dünnschichtchromatographie wurde auf übliche Weise durchgeführt<sup>15,16</sup>.

*Infrarote Spektroskopie.* 150 µg der zu untersuchenden Substanzen in äthanolischer Lösung wurden mittels Mikropipetten auf die losen, auf übliche Weise<sup>15-17</sup> hergestellten Aluminiumoxidschichten, aufgetragen.

Opium- und Strychnosalkaloide wurden im System Äther-Äthanol (97:3), Pyrazolonderivate im System Chloroform-Äthanol (80:20), Sulfonamide im Elutionssystem Chloroform-Äthanol (80:15) und Phenothiazinderivate im System





Bei Morphin entstehen nach Joddetektion mit Joddämpfen Änderungen im Gebiete der phenolischen Hydroxyle und zwar bei  $1230\text{ cm}^{-1}$ , wie auch eine Abschwächung im Gebiete des alkoholischen Hydroxyls, das heisst bei  $1410\text{ cm}^{-1}$  und bei  $3600\text{ cm}^{-1}$  (siehe Fig. 1).

Das Codein bindet sich irreversibel mit dem Jod durch Wirkung seiner freien Elektronen. Die Spektren dieses Stoffes weisen nach der Detektion sichtbare Änderungen im Gebiete von  $800\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ , das heisst im Gebiete wo unter anderem auch die  $\text{N-CH}_3$  Bindungen liegen, auf. Merkbar sind auch Änderungen im Gebiete der Doppelbindungen im aromatischen Zyklus.

Acetylmorphin weist deutlich Änderungen im Gebiete der Carbonyl-maxima, das heisst bei  $1280$  und  $1720\text{ cm}^{-1}$ . Diese Änderungen werden wahrscheinlich durch Desacetylierung mittels Jodeinwirkung verursacht.

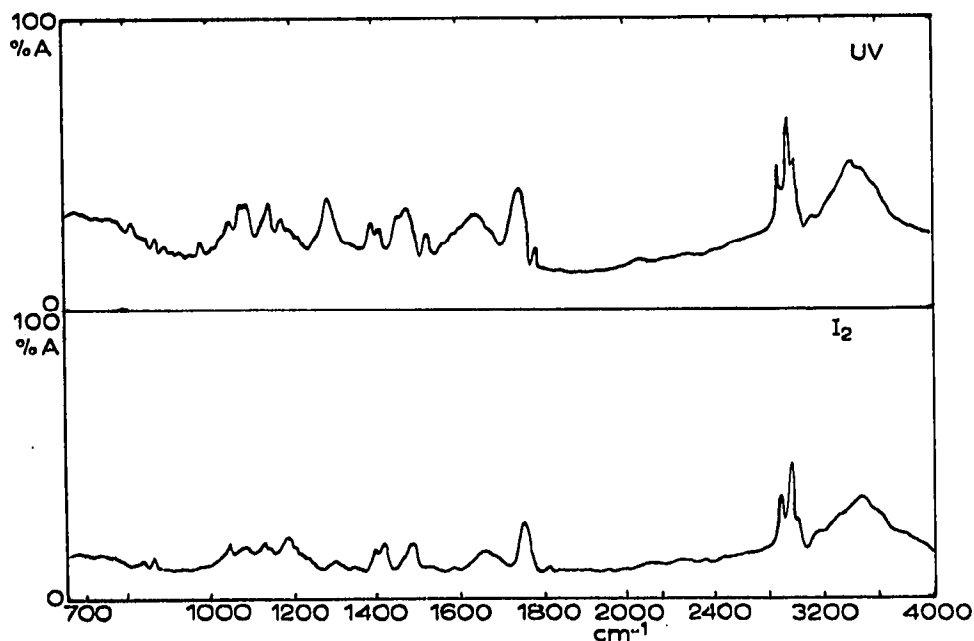


Fig. 1. IR Spektrum des Morphins. Oben: nach Sichtbarmachung im UV-Lichte; unten: nach Joddetektion.

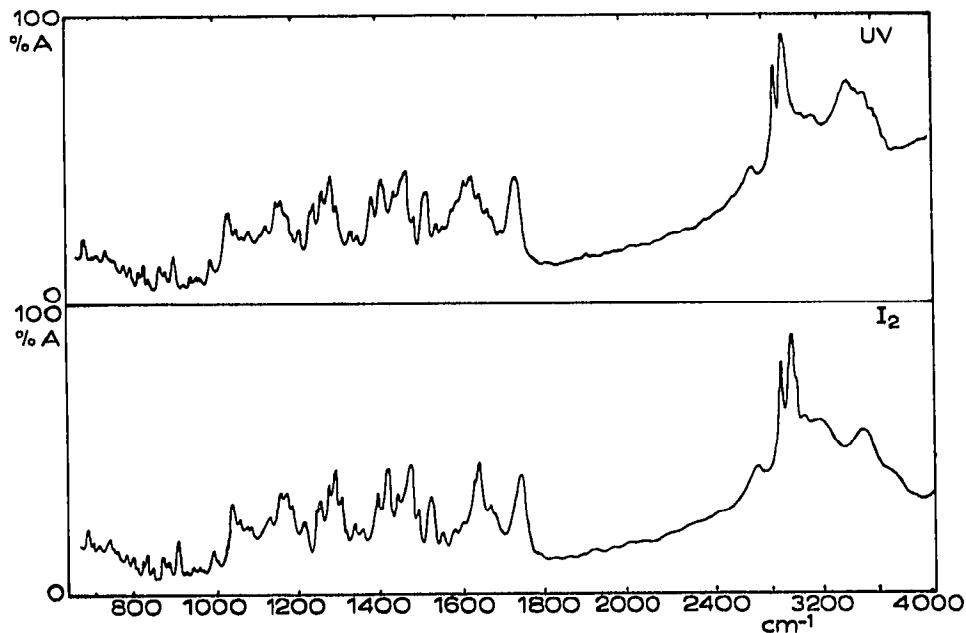


Fig. 2. Spektrum des Papaverins. Oben: nach Sichtbarmachung in UV-Lichte; Unten: nach Joddetektion.

Oxycodion zeigt Änderungen im Gebiete der  $-OH$  Gruppe bei  $1410$  und  $3600\text{ cm}^{-1}$ . Die Änderungen im Frequenzbereich  $1480-1600\text{ cm}^{-1}$  weisen auf Änderungen des aromatischen Systems hin.

#### *Strychninalkaloide*

Strychnin zeigt reversible Jodaddition. Sein IR-Spektrum bleibt nach Joddetektion ohne Änderungen.

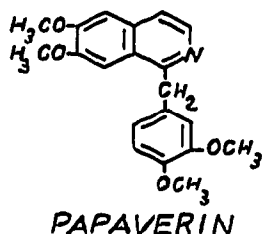
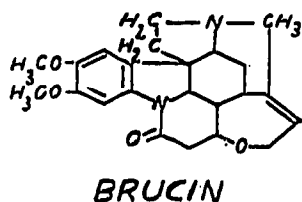
Brucin weist nach Joddetektion Änderungen im Bereich der  $CH-$  und  $-OCH_3-$  Gruppen aus, was zu Änderungen bei  $1100-1500\text{ cm}^{-1}$  führt. Das Jod bindet sich dabei wahrscheinlich auf den Sauerstoff in den  $-OCH_3$  Gruppen und durch seine oxydative Einwirkung entsteht ein *o*-Chinonderivat: Ähnlich ist dies auch beim Papaverin (Fig. 2), dessen Spektrum wir wegen des Feststellens der Beeinflussung der  $-OCH_3$  Gruppen studierten.

#### *Pyrazolon- und Pyrazolidinderivate*

Aus dieser Gruppe haben wir den Einfluss der Joddetektion bei Amidopyrin, Antipyryn, Ketazon, Phenylbutazon und Trimethazon untersucht.

*Amidopyrin und Antipyryn.* Bei Amidopyrin und Antipyryn ist der Einfluss der Joddetektion bedeutungslos. Bei Amidopyrin wurde eine kleine Änderung bei  $1300-1400\text{ cm}^{-1}$  merkbar. Diese kann auf Quaternisierung des Stickstoffes in seinem Molekül zurückgeführt werden.

Bei Antipyryn sind nur kleine, durch teilweise Jodaddition an die Doppelbindung verursachte Änderungen bei  $1000\text{ cm}^{-1}$  merkbar. Bei diesen beiden Stoffen bleibt das Pyrazolonzyklus unberührt.



*Phenylbutazon, Ketazon und Trimethazon.* Diese Stoffe zeigten nach Joddetektion bedeutende Änderungen im Gebiete der amidischen Carbonyle, das heisst bei  $1700-1760\text{ cm}^{-1}$ . Der Pyrazolidinring kann wahrscheinlich nach vorläufiger Jodaddition auf die Carbonylgruppe durch oxidative Einwirkung gespalten werden (siehe Fig. 3).

#### Sulfonamide

Aus der Reihe der Sulfonamide haben wir den Einfluss der Joddetektion bei Sulfacetamid, Sulfathiazol, Sulfaguanidin und Sulfamethoxydin untersucht. Bei allen studierten Sulfonamiden war die Addition des Jodes reversibel<sup>15</sup>. Im Spektrum

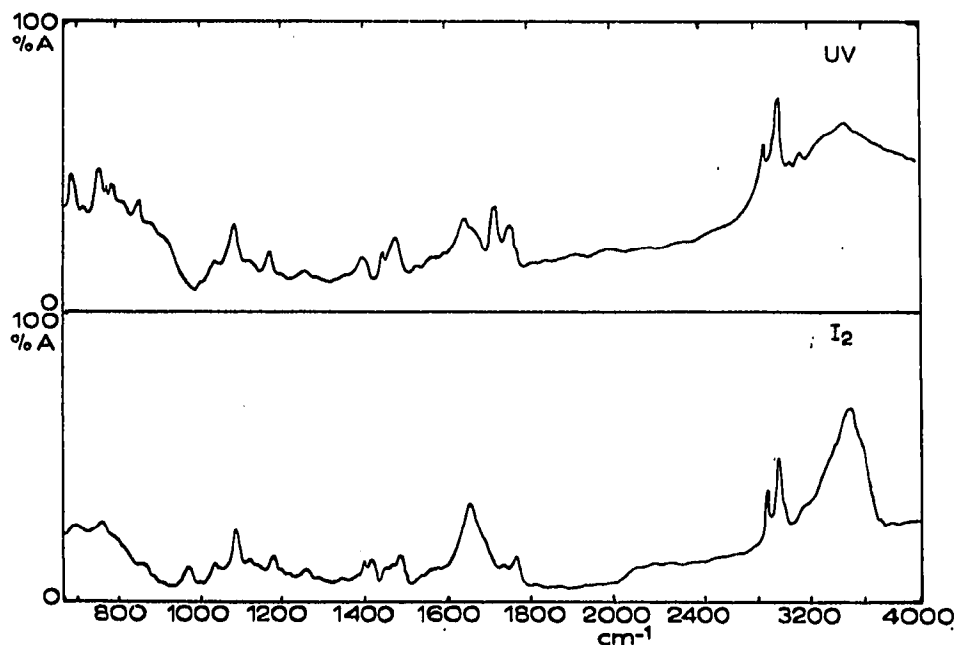
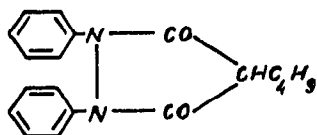
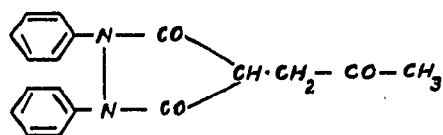


Fig. 3. Spektrum des Ketazons. Oben: nach Sichtbarmachung im UV-Lichte; unten: nach Joddetektion.



PHENYLBUTA ZON



KETA ZON

des Sulfathiazols sind nur kleine Änderungen sichtbar, deren Erklärung noch nicht ganz eindeutig ist (Fig. 4).

#### *Phenothiazinderivate*

Zum Abschluss studierten wir die Spektren des Chlorpromazins, Dichlorpromazins und Promethazins. Nur beim Promethazin kam es nach Joddetektion zur Änderung in seinem Molekül<sup>17</sup>. Durch Einfluss der verzweigten Methylgruppe in der Seitenkette des Promethazins kommt es zu Deformationen und dadurch zur Verminderung der sterischen Zugänglichkeit des Stickstoffes im Heterozyklus.

Es entsteht nicht nur eine irreversible Bindung des Jodes auf den Stickstoff im Heterozyklus, sondern es kommt auch zu einem tiefen Eingriff in sein Molekül. Die

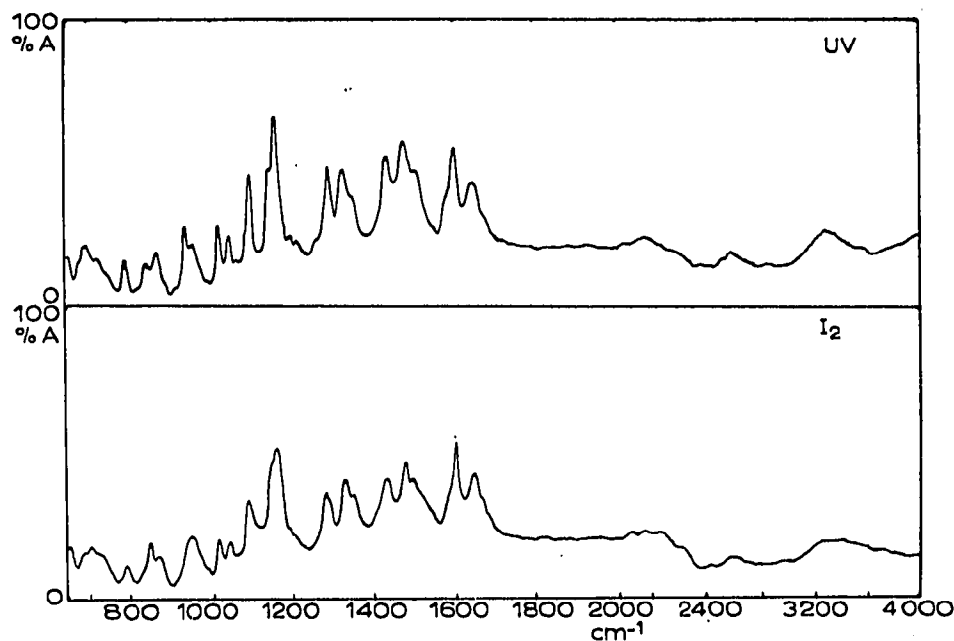
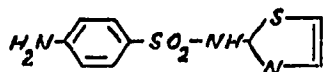
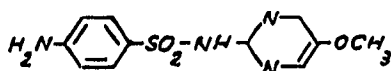


Fig. 4. Spektrum des Sulfathiazols. Oben: nach Sichtbarmachung im UV-Lichte; unten: nach Joddetektion.



SULFATHIAZOL



SULFAMETHOXYDIN

Änderungen sind im Gebiete von  $900\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ , wie schon früher beschrieben wurde<sup>6</sup>. Ähnliche Änderungen zeigt das Spektrum dieses Stoffes bei Aufbewahrung einer wässrigen Lösung in geschlossenem Reagensglas im Tageslicht und bei Zimmertemperatur, was durch oxidative Einwirkung erklärt wurde (siehe Fig. 4).

#### DISKUSSION

In unserer Arbeit wurde der Einfluss des Jodes auf die durch Dünnschichtchromatographie getrennten und in Joddämpfen sichtbargemachten Stoffe mittels IR Spektroskopie studiert.

Es wurde die Stabilität der Additionskomplexe zwischen Jod und dem tertiären Stickstoff, bei den Stoffen von verwandter chemischer Struktur und zwar den Opiumalkaloiden, Strychninalkaloiden, Pyrazolon- und Pyrazolidin-Derivaten, Sulfonamiden und Phenothiazinderivaten, wie auch weiteren in unseren früheren Arbeiten angeführten Verbindungen, untersucht. Bei Joddetektion kommt es bei Stoffen mit aromatischem Charakter zu elektrophilen, bzw. oxidativen Reaktionen. Bei Stoffen mit aromatischen Methoxygruppen, wie z.B. Codein, Brucin usw. bindet sich das Jod irreversibel und es kommt durch oxidative Reaktion zur Entstehung von chinoiden Verbindungen. Der Einfluss des Schwefels in Heterozyklus, oder sterische Einflüsse, welche durch verzweigte Seitenkette der aromatischen Stoffe in Betracht kommen, erhöhen die Wahrscheinlichkeit von irreversibeler Addition des Jodes auf den Stickstoff, da das Jod nicht nur den Stickstoff, aber auch den Schwefel in Heterosystem, wie das beim Promethazin und wahrscheinlich auch Sulfathiazol usw. ist, binden kann.

Diese Resultate, welche wir mittels der IR Spektroskopie der Stoffe nach chromatographischer Trennung und Joddetektion oder Sichtbarmachung im UV-Lichte erhalten haben, sind in Übereinstimmung mit den Schlüssen die wir nach quantitativer Auswertung dieser Stoffe gemacht haben.

Unsere Feststellungen in Fortsetzung einer früheren Untersuchung führten zur Erklärung der Unterschiede, die bei der Auswertung dieser Stoffe erzielt wurden.

#### ZUSAMMENFASSUNG

In unserer Arbeit wurde der Einfluss des Jodes nach Detektion der durch



Dünnschichtchromatographie getrennten und in Joddämpfen sichtbargemachten Verbindungen mittels infraroter Spektroskopie, studiert. Es wurde die Stabilität der Additionskomplexe zwischen Jod und dem tertiären Stickstoffe der auf diese Weise sichtbargemachten Verbindungen von verwandter chemischer Struktur und zwar der Opiumalkaloide, der Strychnosalkaloide, der Sulfonamide, Pyrazolon-, Pyrazolidin- und den Phenothiazinderivate, wie auch anderer studiert.

Bei Joddetektion kommt es bei Verbindungen mit aromatischem Charakter zu elektrophilen Substitutions-, respektive Oxidationsreaktionen. Bei Verbindungen mit Methoxygruppen am aromatischen Zyklus, wie dies beim Codein, Brucin, Papaverin und so weiter ist, bindet sich das Jod irreversibel und infolge oxidativer Reaktionen kommt es zur Entstehung von Bindungen chinoiden Charakters. Der Einfluss des Schwefels oder sterischer Verhältnisse, wie zum Beispiel einer verzweigten Seitenkette am aromatischen Ringe, erhöht die weitere Möglichkeit der irreversibelen Jodaddition, da das Jod ausser an den Stickstoff, sich auch an den Schwefel im Heterosystem, wie dies beim Promethazin, Sulfathiazol, usw. ist, binden kann.

Die Resultate dieser Studie sind im Einklang mit den Resultaten, welche wir bei den Verbindungen nach ihrer chromatographischen Trennung und quantitativen Auswertung erhielten.

#### LITERATUR

- 1 W. HEIDBRINK, *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 66 (1964) 569.
- 2 R. P. A. SIMS UND J. A. G. LAROSE, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 39 (1962) 232.
- 3 H. GÄNSHIRT, *Arch. Pharm.*, 296 (1965) 129.
- 4 H. GÄNSHIRT UND J. POLDERMAN, *J. Chromatog.*, 16 (1964) 510.
- 5 J. S. MATTHEWS, A. L. PEREDA V. UND A. AGUILERA P., *J. Chromatog.*, 9 (1962) 331.
- 6 M. L. NICHAMAN, C. C. SWETTLEY, N. M. OLDHAM UND R. E. OLSON, *J. Lipid Res.*, 4 (1963) 484.
- 7 D. ABRAMSON UND M. BLECHER, *J. Lipid Res.*, 5 (1964) 628.
- 8 L. S. DE BOHNER, E. F. SOTO UND T. DE COHAN, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 513.
- 9 V. P. SKIPSKI, R. F. PETERSON UND M. BARCLAY, *Biochem. J.*, 80 (1964) 374.
- 10 M. ŠARŠUNOVÁ UND NGUYEN KIM CHI, *Česk. Farm.*, 15 (1966) 522.
- 11 M. ŠARŠUNOVÁ, V. SCHWARZ, E. FEKETEVOVÁ UND M. PROTIVA, *Pharmazie*, 21 (1966) 219.
- 12 M. ŠARŠUNOVÁ, B. KAKÁČ, V. MALÝ UND V. SCHWARZ, *Pharmazie*, 22 (1967) 752.
- 13 B. KAKÁČ, M. ŠARŠUNOVÁ, TRAN-THI HOANG-BA UND J. VACHEK, *Pharmazie*, 5 (1967) 202.
- 14 M. ŠARŠUNOVÁ, J. TÖLGYESSY UND M. HRADIL, *Pharmazie*, 19 (1964) 336.
- 15 M. ŠARŠUNOVÁ UND V. SCHWARZ, *Pharmazie*, 17 (1962) 527.
- 16 M. ŠARŠUNOVÁ UND V. SCHWARZ, *Pharmazie*, 18 (1963) 34.
- 17 M. ŠARŠUNOVÁ UND B. KAKÁČ, *Z. Anal. Chem.*, 245 (1969) 154.

*J. Chromatog.*, 48 (1970) 353-361