

CHROM. 8275

Note

Reaktionschromatographischer Nachweis einiger N-Nitrosamine der Tabakalkaloide

H. KLUS und H. KUHN

Chemisches Laboratorium der Austria Tabakwerke, Porzellangasse 51, A-1091 Wien (Österreich)

(Eingegangen am 24. Februar 1975)

Im Rahmen unserer Arbeiten über die Nitrosamine der Tabakalkaloide^{1,2} erwies es sich als notwendig, ein dünn-schichtchromatographisches Trenn- und Identifizierungsverfahren für diese Verbindungsgruppe auszuarbeiten. Mit dieser Methode sollte ihr Nachweis auch in Gegenwart von Tabakalkaloidspuren mit Sicherheit zu führen sein.

Die Auftrennung der Tabakalkaloide mit Hilfe der zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie wurde bereits vor Jahren von Hodgson *et al.*³ beschrieben. Auch bei unseren Arbeiten hat sich dieses chromatographische System bewährt. Die Trennung von N-Nitrosornikotin, N-Nitrosoanabasin und N-Nitrosoanatabin stösst hingegen auf Schwierigkeiten. Diese drei Verbindungen zeigen bei den von Hodgson angegebenen Bedingungen fast idente R_F -Werte, ausserdem liegt auch der des Nikotins im gleichen Bereich. Überführt man hingegen die N-Nitrosoverbindungen nach der ersten dünn-schichtchromatographischen Auftrennung durch Besprühen mit saurer $TiCl_3$ -Lösung in die entsprechenden sekundären Tabakalkaloide und entwickelt die Platte anschliessend in der zweiten Richtung, so ist die Identifizierung der Nitrosamine und ihre Abtrennung vom Nikotin möglich.

Kürzlich wurde von Schütz $TiCl_3$ für den reaktionschromatographischen Nachweis von Nitrazepam vorgeschlagen⁴. Die von ihm angewandte Methodik entspricht teilweise auch der von uns eingesetzten.

MATERIAL UND METHODEN

Alle verwendeten Reagenzien und Lösungsmittel, ausser der $TiCl_3$ -Lösung, waren p.A.-Ware. Die $TiCl_3$ -Lösung (15%ig; Merck, Darmstadt, B.R.D.) wurde mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure verdünnt. Die N-Nitrosamine wurden nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Basen dargestellt. Nornikotin und Anatabin gewannen wir aus einer nebenalkaloidreichen Tabakvarietät, Anabasin und Nikotin waren in den Beständen unseres Labors vorhanden. Die beiden letzteren Alkaloide wurden vor ihrer Verwendung im Vakuum unter Stickstoff destilliert.

Dünnschichtchromatographische Bedingungen

Kieselgel Fertigplatten HF_{254} (Merck), Schichtdicke 0.25 mm, 10 × 10 cm, wurden verwendet. Das Laufmittel war Chloroform-Methanol-Ammoniak (60:10:1),

Kammersättigung. Die Sichtbarmachung der Alkaloide erfolgte durch Besprühen mit einer Mischung aus gleichen Volumina 2%iger äthanolischer *p*-Aminobenzoesäure und Phosphatpuffer, pH 7, und anschliessendem Bedampfen mit BrCN.

Arbeitsvorschrift

Die Probenlösung wird, wie für die zweidimensionale Dünnschichtchromatographie üblich, auf die Platte aufgebracht. Nach dem Entwickeln in der ersten Laufrichtung wird die Dünnschichtplatte so abgedeckt, dass nur mehr die den Nitrosaminen entsprechende Zone freibleibt. Nun besprüht man diese Zone mit HCl-saurer TiCl₃-Lösung, trocknet kurz bei 120° und setzt die gebildeten Alkaloide durch Bedampfen mit NH₃ aus ihren Hydrochloriden frei. Anschliessend wird das Chromatogramm in der zweiten Richtung mit dem gleichen Laufmittel entwickelt.

ERGEBNISSE

Durch das Besprühen mit HCl-saurer TiCl₃-Lösung werden die N-Nitrosamine quantitativ in die entsprechenden Alkaloide überführt. Wie man aus den unten angeführten *R_F*-Werten sieht, können diese im Gegensatz zu den Nitrosaminen an Kieselgel getrennt werden. Die Nachweisgrenzen sind durch die Empfindlichkeit der Farbreaktion gegeben und liegen bei 0.5 µg pro Fleck.

Als *R_F*-Werte für die Nitrosamine wurden gefunden: N-Nitrosoornikotin, 0.60; N-Nitrosoanabasin, 0.64; N-Nitrosoanatabin, 0.64. Als *R_F*-Werte für die entsprechenden Alkaloide und das Nikotin wurde gefunden: Nornikotin, 0.37; Anabasin, 0.42; Anatabin, 0.50; Nikotin, 0.58.

Aromatische Nitrosamine, wie das N-Nitroso-N-Methylanilin, bilden durch Behandeln mit TiCl₃ auf der Dünnschichtplatte ebenfalls die entsprechenden Basen. Hingegen konnten mit flüchtigen Nitrosaminen, wie dem N-Nitrosopyrrolidin, dem N-Nitrosopiperidin, usw. diese guten Ergebnisse nicht erhalten werden. Der Umsatz lag bei diesen Verbindungen bei maximal 30%. Die freigesetzten sekundären Amine wurden hier durch Besprühen mit 1% 7-Chlor-4-nitrobenzofurazan in Methanol sichtbar gemacht.

LITERATUR

- 1 H. Klus und H. Kuhn, *Fachl. Mitt. Österr. Tabakregie*, 14 (1973) 251.
- 2 H. Klus und H. Kuhn, *Fachl. Mitt. Österr. Tabakregie*, im Druck.
- 3 E. Hodgson, E. Smith und F. E. Guthrie, *J. Chromatogr.*, 20 (1965) 176.
- 4 H. Schütz, *J. Chromatogr.*, 94 (1974) 159.