

CHROM. 8767

VINYLOGE ACYLVERBINDUNGEN

XV*. DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHER NACHWEIS TOXIKOLOGISCH RELEVANTER 2-HALOGENVINYLKETONE

GERHARD W. FISCHER

Forschungsstelle für chemische Toxikologie der Akademie der Wissenschaften der DDR, Johannisallee 20, DDR-701 Leipzig (D.D.R.)

(Eingegangen am 12. August 1975)

SUMMARY

Vinylogous acyl compounds. XV. Thin-layer chromatographic detection of 2-halovinyl ketones with toxicological relevance

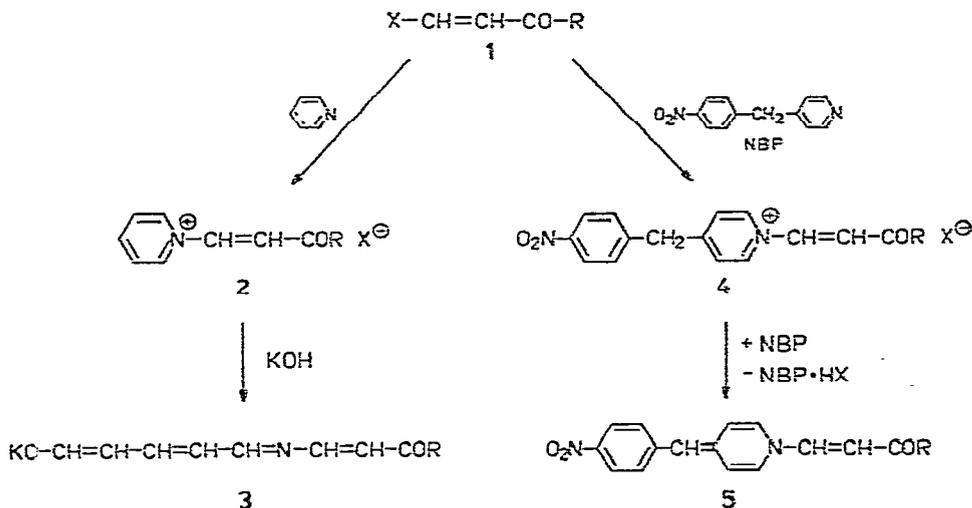
The basic ring-opening of 1-(2-acylvinyl)-pyridinium salts yielding azaoxonol dyes and the spontaneous dehydrohalogenation of 1-(2-acylvinyl)-4-(4-nitrobenzyl)-pyridinium salts to deeply coloured anhydrous bases underlie two sensitive thin-layer chromatographic detection procedures for 2-halovinyl ketones ($R-CO-CH=CH-X$). The detection limits are $0.06 \mu\text{g}$ on successive use of methanolic solutions of pyridine and potassium hydroxide as spray reagents and $0.02 \mu\text{g}$ on spraying with an acetonic solution of 4-(4-nitrobenzyl)-pyridine. R_F values of twenty-five *trans*- and twelve *cis*-configured 2-halovinyl ketones for three solvent systems are given.

EINLEITUNG

Carbonylaktivierte Vinylhalogenide vom Typ $R-CO-CR'=CR''-X$ haben in den letzten zwei Jahrzehnten als reaktive Synthesebausteine zunehmend an Interesse gewonnen. Während über Herstellung, Reaktionsverhalten und Verwendung dieser Verbindungen bereits mehrfach zusammenfassend berichtet wurde²⁻⁷, liegen zu ihrer Analytik ausser der reinen IR-, NMR- und UV-spektroskopischen Charakterisierung bisher keine speziellen Untersuchungen vor. Die ausgeprägte haut- bzw. schleimhautschädigende Wirkung⁸⁻¹⁰ sowie die teils beträchtliche akute Toxizität¹¹ zahlreicher 2-Halogenvinylcarbonylverbindungen werfen indes die Frage ihrer Nachweisbarkeit, insbesondere in Spuren Mengen, auf. Aus diesem Grunde wurden verschiedene Farbreaktionen carbonylaktivierter Vinylhalogenide auf analytische Brauchbarkeit geprüft. Im Falle von 2-Halogenvinylketonen der Struktur 1 erwiesen sich die Umsetzung mit Pyridin zu 1-(2-Acylvinyl)-pyridiniumsalzen 2 (Lit. 12) und deren alka-

* XIV. Mitt.: Lit. 1.

lische Ringöffnung zu Azzo xonolfarbstoffen 3 (Lit. 13) sowie die über 1-(2-Acylvinyl)-4-(4-nitrobenzyl)-pyridiniumsalze 4 verlaufende Reaktion mit 4-(4-Nitrobenzyl)-pyridin (NBP) zu Farbstoffen vom Typ 5 (Lit. 1) als geeignete dünnschichtchromatographische Detektionsverfahren.



MATERIAL UND METHODIK

Dünnschichtplatten

Glasplatten vom Format 20 × 20 cm wurden mit 0,25 mm Kieselgel G (E. Merck, Darmstadt, B.R.D.) beschichtet und nach einstündigem Trocknen an der Luft 30 min bei 110° aktiviert. Die Verwendung erfolgte jeweils nach zweistündigem Abkühlen über Silicagel im Exsikkator.

Testlösungen

Von den untersuchten 2-Halogenvinylketonen kamen Lösungen in Hexan mit 1 mg/ml und 0,1 mg/ml zur Anwendung. Schwer lösliche Verbindungen wurden zunächst in wenig Benzol gelöst und dann mit Hexan auf die angegebenen Konzentrationen gebracht. Als Standard für die R_F -Wert-Bestimmung wurde das aus einer 0,01-%igen benzolischen Lösung von Indophenolblau, Sudanrot G und 4-Dimethylaminoazobenzol bestehende lipophile Testfarbstoffgemisch nach Stahl (Merck) benutzt.

Entwicklung

Die Entwicklung erfolgte in Sandwich-Kammern bis zu einer Fronthöhe von 10 cm. Als Laufmittel kamen Benzol, Methylenchlorid und *n*-Hexan-Äthylacetat (9:1) zur Anwendung.

Sprühreagentien

Reagens Ia: 10%ige Lösung von Pyridin in Methanol. Reagens Ib: 10%ige

Lösung von Kaliumhydroxid p.A. in Methanol. Reagens II: 1 %ige Lösung von 4-(4-Nitrobenzyl)-pyridin (NBP) in Aceton.

Detektion

Pyridin-KOH-Methode. Die getrockneten Platten werden zuerst mit Reagens Ia und nach frühestens 10 min mit Reagens Ib besprüht. In Abhängigkeit von Art und Menge des jeweiligen 2-Halogenvinylketons erscheinen gelbrote, rote oder rotbraune Flecke, die nach einiger Zeit wieder verblassen. Bei Spurenmengen empfiehlt sich die sofortige Markierung.

NBP-Methode. Das Besprühen mit Reagens II lässt 2-Halogenvinylketone je nach Struktur und Konzentration als rote, rotviolette oder rotbraune Flecke sichtbar werden. Bei Mengen an der unteren Nachweisgrenze dauert die volle Ausbildung der Flecke mitunter 20–30 min.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die mit beiden Detektionsverfahren für achtzehn *trans*-2-Chlor- und sieben *trans*-2-Jodvinylketone ermittelten Nachweisgrenzen sind zusammen mit den R_f -Werten für drei verschiedene Laufmittel in Tabelle I aufgeführt. Wie ersichtlich, ist die Pyridin-KOH-Methode durchweg etwas unempfindlicher als das NBP-Reagens, mit dem teilweise bis zu zehnfach niedrigere Nachweisgrenzen erreicht werden. In beiden Nachweisreaktionen stellt die primäre Bildung der farblosen Pyridiniumsalze 2 und 4 den langsam, die Freisetzung der Farbstoffe 3 und 5 dagegen den schnell verlaufenden Reaktionsschritt dar. Aus diesem Grunde bedarf es im Falle der Pyridin-KOH-Methode, insbesondere bei Mengen an der unteren Nachweisgrenze, einer hinreichend langen Einwirkungszeit des Pyridins, ehe mit Kaliumhydroxid die Ringöffnung zum Farbstoff 3 vorgenommen werden kann. In ähnlicher Weise erklärt sich die langsame Ausbildung der Farbflecke beim Nachweis geringer Mengen 2-Halogenvinylketon mit NBP.

Das Prinzip der alkalischen Ringspaltung intermediär gebildeter Pyridiniumsalze zu farbigen Glutaconaldehydderivaten liegt bekanntlich verschiedenen spektrophotometrischen Bestimmungsverfahren für reaktive organische Halogenverbindungen zugrunde¹⁴. Es war daher zu untersuchen, inwieweit der hier beschriebene dünn-schichtchromatographische Nachweis spezifisch für 2-Halogenvinylketone I ist. Die Prüfung einer Reihe aliphatischer Halogenverbindungen vom Typ $R-CX_3$, $R-CHX_2$ und $R-CH_2X$ ($X = \text{Halogen}$) mit positiver Fujiwara-Reaktion (Lit. 15; vgl. Lit. 14, S. 666) (Gelb- oder Rotfärbung beim Erhitzen mit Pyridin in wässrig-alkalischer Lösung) verlief bei Einsatz vergleichbarer wie auch grösserer Substanzmengen unter den angegebenen dünn-schichtchromatographischen Bedingungen negativ. Selbst strukturell verwandte 2-Chlorvinylcarbonylverbindungen mit 2-ständigem Alkyl- oder Arylsubstituenten werden auf diese Art nicht erfasst, da sie nicht zur Bildung von 2 analogen Pyridiniumsalzen befähigt sind¹². Erwartungsgemäss geben sich dagegen hinreichend aktivierte Arylhalogenide, z.B. 2,4-Dinitrochlorbenzol, durch die als Zincke-Spaltung (Lit. 16, vgl. Lit. 14, S. 682) bekannte Farbreaktion auf der Dünnschichtplatte in ähnlicher Weise wie 2-Halogenvinylketone zu erkennen.

Die auf Koenigs *et al.*¹⁷ zurückgehende Umsetzung von NBP zu Quartärsalzen und deren Überführung in Farbstoffe vom Typ N-substituierter 4-(4-Nitrobenzyliden)-

TABELLE I

 R_f -WERTE UND NACHWEISGRENZEN FÜR *trans*-2-HALOGENVINYLKETONE

Verbindung	R_f -Werte			Nachweisgrenze (μg)	
	Benzol	Methylen- chlorid	<i>n</i> -Hexan- Äthylacetat (9:1)	Pyridin/KOH	NBP
$\text{C}_2\text{H}_5\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.29	0.58	0.43	0.1	0.06
$n\text{-C}_3\text{H}_7\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.36	0.60	0.48	0.1	0.06
$\text{isc-C}_3\text{H}_7\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.42	0.64	0.47	0.1	0.06
$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.51	0.70	0.43	0.06	0.03
$4\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.48	0.68	0.44	0.06	0.04
$4\text{-C}_2\text{H}_5\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.50	0.69	0.45	0.08	0.04
$4\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.28	0.50	0.32	0.06	0.03
$4\text{-F-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.55	0.71	0.45	0.1	0.02
$4\text{-Cl-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.62	0.77	0.46	0.1	0.02
$4\text{-Br-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.65	0.78	0.44	0.2	0.02
$4\text{-I-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.63	0.78	0.45	0.4	0.04
$4\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.43	0.65	0.34	0.4	0.02
$4\text{-C}_6\text{H}_5\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.53	0.72	0.43	0.2	0.02
$2,4\text{-(CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.53	0.71	0.45	0.2	0.03
$2,5\text{-(CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.54	0.71	0.46	0.2	0.03
$2,4,6\text{-(CH}_3)_3\text{C}_6\text{H}_2\text{-CO-CH=CH-Cl}$	0.46	0.69	0.45	0.5	0.04
$1\text{-C}_{10}\text{H}_7\text{-CO-CH=CH-Cl}^*$	0.54	0.80	0.43	0.3	0.02
$2\text{-C}_4\text{H}_4\text{S-CO-CH=CH-Cl}^{**}$	0.43	0.66	0.38	0.06	0.03
$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO-CH=CH-J}$	0.50	0.74	0.44	0.2	0.02
$4\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-J}$	0.49	0.71	0.45	0.2	0.04
$4\text{-C}_2\text{H}_5\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-J}$	0.51	0.74	0.46	0.2	0.06
$4\text{-F-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-J}$	0.54	0.79	0.46	0.4	0.04
$4\text{-Cl-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-J}$	0.61	0.83	0.46	0.5	0.06
$4\text{-Br-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-J}$	0.63	0.85	0.45	0.6	0.08
$4\text{-I-C}_6\text{H}_4\text{-CO-CH=CH-J}$	0.64	0.86	0.45	0.8	0.08
4-Dimethylaminoazobenzol	0.46	0.74	0.36	—	—

* $1\text{-C}_{10}\text{H}_7 = 1\text{-Naphthyl}$.** $2\text{-C}_4\text{H}_4\text{S} = 2\text{-Thienyl}$.

1,4-dihydropyridine hat für die spektrophotometrische Bestimmung¹⁸ sowie in letzter Zeit auch für den dünn-schichtchromatographischen Nachweis¹⁹ alkylierender und anderer zur Quartärsalzbildung befähigter Agentien Bedeutung erlangt. Zur Freilegung der meist blauviolettten Farbstoffe aus den primär entstehenden Pyridiniumsalzen bedarf es gewöhnlich stärkerer Basen wie Triäthylamin, Piperidin oder Alkali. Im Gegensatz dazu bilden 2-Halogenvinylketone 1 entsprechende Farbstoffe 5 bereits ohne Anwendung einer Fremdbase, was sie somit charakteristisch von den meisten NBP-positiven Agentien unterscheidet. Die Deprotonierung der Quartärsalze 4 erfolgt hier auf Grund der stark acidifizierten Benzyl- CH_2 -Gruppe bereits durch überschüssiges NBP selbst¹. Ein analoges Verhalten ist bisher nur von Säurechloriden^{1,20}

und vinylogenen Vilsmeier-Reagentien $\text{R}_2\text{N}^+\text{=CH-CH=CR-Cl X}^-$ (Lit: 1) bekannt. Als Salze sind letztere dünn-schichtchromatographisch leicht von Verbindungen des Typs 1 zu trennen. Säurechloride liefern beim Spot-Test auf Papier gelbe Flecke^{19,21}, nach Chromatographie an Kieselgelschichten ist ihr Nachweis mit NBP allerdings

recht unempfindlich. 2-Chlorvinylcarbonylverbindungen mit Alkyl- oder Arylsubstituenten in 2-Stellung werden unter den angegebenen Bedingungen nicht erfasst.

In gleicher Weise wie die in Tabelle I aufgeführten *trans*-2-Halogenvinylketone lassen sich mit beiden Detektionsmethoden auch entsprechende *cis*-Isomere nachweisen. Auf Grund ihrer niedrigeren R_F -Werte¹⁰ trennen sie sich bei Anwendung nicht zu polarer Laufmittel gut von den *trans*-Isomeren ab und können daher selbst neben einem grossen Überschuss der letzteren sicher festgestellt werden. So waren z.B. die in Tabelle II aufgeführten *cis*-Isomeren als Spuren in NMR-spektroskopisch "reinen" *trans*-Produkten enthalten. Bemerkenswert ist das relativ konstante Verhältnis $R_{Fcis} : R_{Ftrans}$ der kernsubstituierten 2-Chlorvinyl-phenylketone (mit Benzol als Laufmittel z.B. 0.68 ± 0.04).

TABELLE II

 R_F -WERTE *cis*-KONFIGURIERTER 2-HALOGENVINYLKETONE

Verbindung	R_F -Werte		
	Benzol	Methylenchlorid	<i>n</i> -Hexan-Äthylacetat (9:1)
$C_6H_5-CO-CH=CH-Cl$	0.35	0.62	0.30
$4-CH_3-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.32	0.58	0.31
$4-C_2H_5-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.34	0.60	0.34
$4-CH_3O-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.18	0.42	0.15
$4-F-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.38	0.64	0.27
$4-Cl-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.43	0.68	0.28
$4-Br-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.43	0.70	0.29
$4-I-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.45	0.70	0.31
$4-NO_2-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.29	0.58	0.12
$4-C_6H_5-C_6H_4-CO-CH=CH-Cl$	0.36	0.66	0.28
$1-C_{10}H_7-CO-CH=CH-Cl$	0.43	0.74	0.30
$2-C_4H_8S-CO-CH=CH-Cl$	0.39	0.57	0.21
4-Dimethylaminoazobenzol	0.46	0.74	0.36

ZUSAMMENFASSUNG

Die alkalische Ringöffnung von 1-(2-Acylvinyl)-pyridiniumsalzen zu Azaoxonolfarbstoffen und die leichte Deprotonierbarkeit von 1-(2-Acylvinyl)-4-(4-nitrobenzyl)-pyridiniumsalzen zu tieffarbigen Anhydrobasen bilden die Grundlage zweier empfindlicher dünnschichtchromatographischer Detektionsverfahren für 2-Halogenvinylketone vom Typ $R-CO-CH=CH-X$. Bei aufeinanderfolgender Anwendung methanolischer Lösungen von Pyridin und Kaliumhydroxid als Sprühreagentien liegt die Nachweisgrenze um $0.06 \mu g$, bei Verwendung einer acetoneischen 4-(4-Nitrobenzyl)-pyridinlösung um $0.02 \mu g$. Die R_F -Werte von fünfundzwanzig *trans*- und zwölf *cis*-2-Halogenvinylketonen für drei Laufmittel werden mitgeteilt.

LITERATUR

- 1 G. W. Fischer, *J. Prakt. Chem.*, 317 (1975) 779.
- 2 N. K. Kochetkov, *Usp. Khim.*, 24 (1955) 32; *C.A.*, 49 (1955) 7544; deutsche Version in: *Chem. Tech. (Leipzig)*, 7 (1955) 518.

- 3 N. K. Kochetkov, *Prakt. Chem. (Wien)*, 12 (1961) 336.
- 4 A. E. Pohland und W. R. Benson, *Chem. Rev.*, 66 (1966) 161.
- 5 M. I. Rybinskaya, A. N. Nesmeyanov und N. K. Kochetkov, *Usp. Khim.*, 38 (1969) 961; *C.A.*, 71 (1969) 48834.
- 6 R. Gipp, in E. Müller (Editor), *Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl)*, Band 7/2a, *Ketone I*, Georg Thieme, Stuttgart, 4. Aufl., 1973, S. 480.
- 7 H. Teufel, *Chem.-Ztg.*, 98 (1974) 606.
- 8 Ch. C. Price und J. A. Pappalardo, *J. Amer. Chem. Soc.*, 72 (1950) 2613.
- 9 R. Gipp, in E. Müller (Editor), *Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl)*, Band 7/2a, *Ketone I*, Georg Thieme, Stuttgart, 4. Aufl., 1973, S. 483.
- 10 B. Cavalchi, D. Landini und F. Montanari, *J. Chem. Soc., C*, (1969) 1204.
- 11 G. W. Fischer und F. Riemer, nicht veröffentlichte Ergebnisse.
- 12 G. W. Fischer, *Chem. Ber.*, 103 (1970) 3470.
- 13 G. W. Fischer, *Chem. Ber.*, 103 (1970) 3489.
- 14 B. Kakáč und Z. J. Vejdělek, *Handbuch der photometrischen Analyse organischer Verbindungen*, Verlag Chemie, Weinheim, 1974, S. 666, 668, 670 und 682.
- 15 K. Fujiwara, *Sitzungsber. Abh. Naturforsch. Ges. Rostock*, 6 (1961) 33; *C.A.*, 11 (1917) 3201.
- 16 Th. Zincke, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 330 (1903) 361.
- 17 E. Koenigs, K. Köhler und K. Blindow, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 58 (1925) 933.
- 18 B. Kakáč und Z. J. Vejdělek, *Handbuch der photometrischen Analyse organischer Verbindungen*, Verlag Chemie, Weinheim, 1974, S. 612, 662, 694, 720 und 739.
- 19 E. Sawicki und C. R. Sawicki, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 163/2 (1969) 895.
- 20 J. Epstein, R. W. Rosenthal und R. J. Ess, *Anal. Chem.*, 27 (1955) 1435.
- 21 E. Sawicki, D. F. Bender, T. R. Hauser, R. M. Wilson und J. E. Meeker, *Anal. Chem.*, 35 (1963) 1479.