

## Note

### Verwendung der TAS-Methode zur Analyse der Droge Cortex Chinae\*

KAREL CHMEL und VLASTA CHMELOVÁ-HLAVATÁ

Entwicklungslaboratorium, Glaswerke Kavalier, Betrieb Votice, 259 39 Votice (Tschechoslowakei)

(Eingegangen am 21. August 1975; geänderte Fassung eingegangen am 28. Oktober 1975)

Methoden, bei denen eine Erhitzung der zu untersuchenden Proben und eine nachfolgende chromatographische Trennung der Produkte der thermischen Zersetzung angewandt werden, sind schon längere Zeit bekannt<sup>1–4</sup>. Insbesondere Stahl und Mitarbeiter arbeiteten die Anwendung der Methoden TAS und TFG für die Analyse einer ganzen Reihe von Drogen und anderer Stoffe aus<sup>2,3,5–10</sup>. Die Verwendung der obenangeführten Methoden für die Analyse der Droge Cortex Chinae ist bisher nicht gelungen. Die Ergebnisse sind entweder nicht reproduzierbar<sup>11</sup> oder es werden nur die Zersetzungsprodukte gefunden<sup>12</sup>. Die Frage interessierte uns, und wir versuchten mit Verwertung einer früher beschriebenen Modifikation<sup>4</sup> der Methode TAS die Analyse der Droge Cortex Chinae durchzuführen. Es zeigte sich, dass es unter gewissen Bedingungen möglich ist, auch aus dieser Droge die Alkaloide nahezu ohne Zerwertung zu destillieren.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

##### *Material und Methode*

Die Standards von Chininsulfat und Chinidinhydrochlorid sowie die Droge Cortex Chinae entsprachen dem Tschechoslowakischen Arzneibuch 3<sup>13</sup>. Eine Standardtrituration der Alkaloide wurde durch Verreiben dieser Stoffe mit mikrokristalliner Zellulose LT (Lachema, Brno, Tschechoslowakei) für Dünnschicht-Chromatographie (DC) zubereitet, und zwar im Verhältnis 1:200. Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel waren von der Qualität *pro analysi*. Die chromatographische Trennung erfolgte auf Fertig-Folien Silufol®, 15 × 15 cm, mit Kieselgel-Dünnschicht (Glashütte Kavalier, Votice, Tschechoslowakei) in Trennkammern von 180 × 180 × 80 mm.

Das Gerät ist ein einfacher Metallblock<sup>4</sup>, in den die Glaspatrone mit der Einwaage der Droge, der Treibstoffe oder anderer Substanzen hineingelegt wird. Der Block wird mit einem Gasbrenner erhitzt und die entstehenden gasförmigen Produkte werden auf den Start der imprägnierten Silufol-Folie geleitet. Nach Erreichen einer vorher bestimmten Temperatur nimmt man die Glaspatrone sowie die Folie heraus, wartet ungefähr 10 Min und entwickelt dann die Folie.

\* Vorgetragen auf der Konferenz "De plantis medicinalibus", Mariánské Lázně, 21.–25. April, 1975.

### *Chromatographische Trennung*

Da bei der thermischen Zersetzung der Droge Stoffe entstehen, die die Flecke deformieren und den Nachweis der Alkaloide erschweren, muss die Folie zuerst im Fliessmittel Toluol-Aceton (45:15) in einer ungesättigten Kammer bis zum Ende der Folie entwickelt werden. Auf diese Weise werden die meisten Ballaststoffe mit der Front der mobilen Phase ausgewaschen.

Es zeigte sich, dass Lösungsmittel, die Diethylamin enthalten, in diesem Fall nicht geeignet sind. Gute Ergebnisse zeigten sich bei der Trennung in gesättigter Kammer in Fliessmittel Methyläthylketon-Methanol-Wasser (6:2:1) auf mit 0.05 *N* KOH imprägniertem Silufol. Die Imprägnierung erfolgte durch Eintauchen der Folie in eine Lösung von KOH in Methanol, Auspressen der überschüssigen Lösung mit Filtrierpapier und Verdunsten des Methanols. In diesem Fall ist es jedoch erforderlich, beim Auftragen des Standards auf die Fertig-Folie die Basen der Alkaloide zu verwenden<sup>14</sup>. Die Zersetzungsprodukte der Chinaalkaloide wurden chromatographisch<sup>12</sup> durch Zweifachentwicklung im Fliessmittel Benzol-Aceton (9:1) in einer gesättigten Kammer identifiziert.

### *Nachweis*

Nachweis erfolgte durch Besprühen des luftgetrockneten Chromatogramms mit einer Lösung von Kaliumjodoplatinat mit nachfolgender Bleichung des Untergrundes durch Besprühen mit Natriumthiosulfatlösung<sup>14-16</sup>. Die Alkaloide werden als braunviolette Flecke nachgewiesen, Cinchonidin ist dunkelgrün, Chinolin und Lepidin sind blaugrün.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ähnlich wie die obengenannten Autoren<sup>11,12</sup> beobachteten wir bei einfacher Anwendung des TAS-Verfahrens entweder keine oder kleine Mengen der Alkaloide. Wir versuchten daher durch Verwendung verschiedener Stoffe, die sich bei erhöhter Temperatur zersetzen und Gase oder Dämpfe entwickeln, die Alkaloide aus der Droge freizusetzen. Die Anwendung dieser Stoffe beschrieben Stahl und Hartmann<sup>17</sup>, die sie Treibstoffe (Propellents) nennen. Diese Stoffe legten wir hinter die Droge in die TAS-Patrone ein<sup>4</sup>. Wir erprobten  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  und  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Nichtsdestoweniger erhielten wir keine guten Ergebnisse. Das Problem wurde erst durch Zufügung alkalisch reagierender Stoffe in die Droge gelöst. Von einer ganzen Reihe geprüfter Stoffe (Carbonate, Oxide und Hydroxide der Alkalimetalle sowie der Erdalkalimetalle) bewährte sich am besten  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Die Droge verrieben wir mit dem genannten Stoff und legten sie erst dann in die TAS-Patrone ein. Von den Treibstoffen bewährte sich nur  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ . Der Einfluss des Treibstoffes und des Alkalizusatzes zur Droge ist gut aus Fig. 1 ersichtlich. Ohne Alkalizusatz werden die Alkaloide selten nachgewiesen, meist erscheint nur ein blaugrüner Fleck der Zersetzungsprodukte. Nach dem Alkalizusatz zur Droge findet man die braunvioletten Flecke der Alkaloide, darunter auch Chinin.

Von grosser Wichtigkeit ist das Verhältnis zwischen der Einwaage der Droge und der des Lithiumhydroxides. In unserer Anordnung kann die Einwaage des Hydroxides nicht über 20 mg erhöht werden, denn der entweichende Wasserdampf

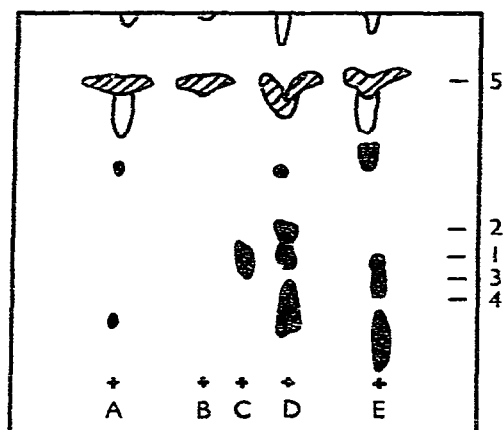


Fig. 1. Einfluss eines Alkalizusatzes zur Droge Cortex Chinae. TAS-Bedingungen: Erhitzen bis auf  $300^{\circ}$ ; A, 100 mg Droge; B, 100 mg Droge, 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$  (Treibstoff); C, Standardlösung der Base des Chinins; D, 100 mg Droge + 25 mg  $\text{MgO}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ; E, 100 mg Droge + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ . DC-Bedingungen: Temperatur  $23^{\circ}$ , relative Luftfeuchtigkeit 52%, Fließmittel und Nachweis wie im Text. 1 = Chinin, 2 = Chinidin, 3 = Cinchonin, 4 = Hydrochinin und Hydrochinidin, 5 = Chinolin und Lepidin.

verschlechtert die Bedingungen für die nachfolgende Trennung. Es ist also notwendig, die Menge der Droge zu ändern (Fig. 2). Ohne Alkalizusatz muss eine hohe Drogeneinwaage (etwa 100 mg) verwendet werden, um eventuell freigesetzte Alkaloide auf dem Chromatogramm nachweisen zu können. Nach einem Alkalizusatz ist es dagegen vorteilhafter, eine niedrigere Drogeneinwaage (20–40 mg) anzuwenden, da sich infolge des vorteilhafteren Verhältnisses der Droge zum Alkali auf dem Chromato-

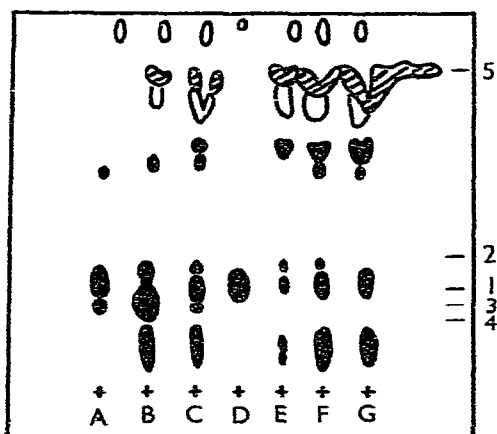


Fig. 2. Einfluss der Drogeneinwaage (die verschiedenen Verhältnisse der Droge zum Alkali). TAS-Bedingungen: Erhitzen bis auf  $300^{\circ}$ ; A, 20 mg der Standardtrituratur des Chinins + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ; B, 20 mg Droge + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ; C, 40 mg Droge + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ; D, Standardlösung der Base des Chinins; E, 60 mg Droge + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ; F, 80 mg Droge + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ ; G, 100 mg Droge + 20 mg  $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 100 mg  $\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$ . DC-Bedingungen und Beschreibung der Alkaloide wie in Fig. 1.

gramm eine grössere Menge an Alkaloiden neben einer kleineren Ballastmenge befindet.

Der blaugrüne Fleck, der nach dem Nachweis mit Jodoplatinat im oberen Teil des Chromatogramms erscheint, gehört zu den Zersetzungsprodukten der Alkaloide. Dies wurde durch zweidimensionale Chromatographie bestätigt. Die chromatographische Trennung wurde in der erster Linie auf die oben beschriebene Weise durchgeführt. Die Zersetzungsprodukte der Alkaloide wurden in zweiter Linie nach Stahl und Schmitt<sup>12</sup> getrennt. Nach Lage der Stoffe auf dem Chromatogramm (im Vergleich mit der Lage der Standardsubstanz Chinolin) und gemäss der Verfärbung nach dem Nachweis kann angenommen werden, dass es sich um Chinolin und kleine Menge von Lepidin handelt.

#### LITERATUR

- 1 R. N. Rogers, *Anal. Chem.*, 39 (1967) 730.
- 2 E. Stahl, *J. Chromatogr.*, 37 (1968) 99.
- 3 E. Stahl (Herausgeber), *Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen*, Fischer, Stuttgart, 1970.
- 4 F. Šita, V. Chmelová-Hlavatá und K. Chmel, *J. Chromatogr.*, 91 (1974) 441.
- 5 E. Stahl, *Z. Anal. Chem.*, 261 (1972) 11.
- 6 E. Stahl und J. Brombeer, *Sci. Pharm.*, 41 (1973) 133.
- 7 E. Stahl und F. Karig, *Z. Anal. Chem.*, 265 (1973) 81.
- 8 E. Stahl und Th. K. B. Müller, *Z. Anal. Chem.*, 268 (1974) 102.
- 9 E. Stahl und Th. K. B. Müller, *Z. Anal. Chem.*, 271 (1974) 257.
- 10 E. Stahl und Th. K. B. Müller, *Z. Anal. Chem.*, 274 (1975) 257.
- 11 G. H. Jolliffe und E. J. Shellard, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 125.
- 12 E. Stahl und W. Schmitt, *Arch. Pharm.*, 307 (1974) 925.
- 13 *Pharmacopoea Bohemoslovenica*, Prag, 3. Ausgabe, S. 515, 517.
- 14 K. Chmel und V. Chmelová-Hlavatá, *Česk. Farm.*, im Druck.
- 15 F. Šita, V. Chmelová und K. Chmel, *Česk. Farm.*, 22 (1973) 234.
- 16 F. Šita, V. Chmelová-Hlavatá und K. Chmel, *Chromatographische Analyse von Drogen*, Glaswerke Kavalier, Votice, 1975, S. 15, 21.
- 17 E. Stahl und L. Hartmann, *Anal. Lett.*, 5 (1972) 377.