

CHROM. 11,445

Note

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie von Arbutin und Methylarbutin

I. Qualitative und quantitative Analyse

Lj. KRAUS und E. STAHL

Lehrstuhl für Pharmakognosie der Universität Hamburg, Bundesstr. 43, D-2000 Hamburg 13 (B.R.D.)

(Eingegangen am 16. Juni 1978; geänderte Fassung eingegangen am 4. September 1978)

Die qualitative Analyse von Arbutin bzw. Methylarbutin in Pflanzenmaterial ist das Ziel verschiedener Arbeiten gewesen^{1–7}. Wegen seiner einfachen Handhabung und hohen Nachweisempfindlichkeit hat sich besonders das TAS-Verfahren⁸ bewährt, welches vor allem als Screeningverfahren für chemotoxonomische Fragestellungen einsetzbar ist.

Mit der Weiterentwicklung der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) auf dem Gebiete der Naturstoffanalytik lag es nahe, diese Methode auch für das Problem des Arbutinnachweises in Pflanzenmaterial anzuwenden, zumal eine direkte quantitative Bestimmung des abgetrennten Arbutins angeschlossen werden kann.

EXPERIMENTELLES

Zur Analyse wurde ein einfaches Gerät der Firma DuPont (841 Liquidchromatograph) verwendet mit eingebautem Photometer (Messwellenlänge 254 nm) eingesetzt. Wir verwendeten eine Nucleosil 10 C₁₈-Säule (Reversed-Phase) 200 × 6 O.D. × 4 I.D. mm. Der Arbeitsdruck betrug 3000 p.s.i. isokratisch, gearbeitet wurde bei Zimmertemperatur. Als Elutionsmittel diente Wasser–Methanol (80:20) bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 110 ml/h. Die Einspritzmenge betrug 2 µl einer 0.25%igen Lösung von Arbutin, Methylarbutin und Hydrochinon und einer 0.005%igen Lösung von Benzochinon jeweils in Wasser–Methanol (80:20).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Qualitative Analyse

Aus Fig. 1 geht hervor, dass bei den angegebenen Bedingungen eine gute Trennung von Arbutin und Methylarbutin bei einer Analysendauer von 6 min zu erhalten ist. Hydrochinon, das Aglycon des Arbutins, liegt klar vom Arbutin getrennt, während Methylhydrochinon, das Aglycon des Methylarbutins, unter diesen Bedingungen nicht von der Säule eluiert wird. Um die Lebensdauer der Säule hierdurch nicht zu gefährden sollte nach ca. 50 Einspritzungen das Methylhydrochinon mit dem Elutionsmittel Wasser–Methanol (1:1) von der Säule gespült werden (Retentionszeit

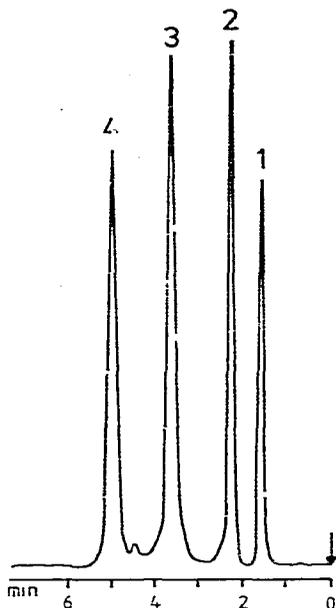


Fig. 1. Chromatogramm von Arbutin, Hydrochinon, Benzochinon und Methyларbutin auf Nucleosil 10 C₁₈-Säule (Reversed-Phase) 200 × 6 O.D. × 4 I.D. mm. Wasser-Methanol (80:20), 110 ml/h. 1 = Arbutin; 2 = Hydrochinon; 3 = Benzochinon; 4 = Methyларbutin.

4 min). Das als innerer Standard für die quantitative Analyse geeignete Benzochinon liegt mit seinem Retentionswert von ca. 4 min günstig zwischen den zu bestimmenden Komponenten.

Die Nachweisgrenze von Arbutin, Methyларbutin und Hydrochinon lag bei ca. 1 µg, von Benzochinon bei ca. 50 ng.

Quantitative Analyse

Um bei der quantitativen Analyse den Einspritzfehler zu eliminieren und trotz eventuell auftretender Druckschwankungen eine übertragbare Eichkurve für Arbutin zu erhalten, schien uns eine von Klaus⁹ für *in-situ*-Messungen mit dem Dünnschichtchromatogramm-Spektralphotometer vorgeschlagene Methode des inneren Standards als geeignet. Hierbei wird die Fläche der zu bestimmenden Komponente F_{Arb} (Arbutin bzw. Methyларbutin) nicht direkt mit der Fläche des inneren Standards F_{Benz} (Benzochinon) verglichen, sondern mit dem Quotienten q , der sich aus der Fläche der zu bestimmenden Komponente und der Fläche des inneren Standards berechnet zu

$$q = \frac{F_{\text{Arb}}}{F_{\text{Benz}}}$$

Von diesem errechneten Quotienten q sollte man erwarten, dass er unabhängig von den absoluten Beträgen der beiden Flächen und somit von dem Einspritzvolumen und der Retentionszeit beider Komponenten ist.

Als innerer Standard schien uns Benzochinon als geeignet, da es käuflich zu

TABELLE I

WERTETABELLE FÜR DIE EICKURVE VON ARBUTIN

Mengen (μg)	F_{Arb} (cm^2)	F_{Benz} (cm^2)	$q = \frac{F_{\text{Arb}}}{F_{\text{Benz}}}$	\bar{q}	Relative Standardabweichung S (%)
Arbutin 2.0 μg } Benzochinon 0.1 μg }	3.16	19.94	0.158	0.157	1.68
	3.11	20.13	0.154		
	3.12	19.62	0.159		
Arbutin 5.0 μg } Benzochinon 0.1 μg }	7.47	20.44	0.365	0.364	0.99
	7.24	19.75	0.367		
	7.05	19.54	0.360		
Arbutin 12.0 μg } Benzochinon 0.1 μg }	18.85	22.14	0.851	0.860	1.11
	19.81	22.78	0.870		
	19.22	22.37	0.859		

erwerben ist, leicht durch Sublimation zu reinigen und verhältnismässig stabil ist. Die relative Standardabweichung für die Konstanz des Quotienten q aus den Messwerten von Arbutin und Benzochinon betrug bei 10 Einspritzungen 3.3%.

Die Linearität der Eichkurve in dem angegebenen Bereich von 2.0 bis 12.0 μg ermöglicht eine quantitative Auswertung (Tabelle I). Über die Ergebnisse bei der Bestimmung von Arbutin im Pflanzenmaterial wird in Kürze berichtet werden.

DANK

Für die Bereitstellung der Säule danken wir Herrn Dr. I. Sebastian (Firma Macherey, Nagel & Co.).

LITERATUR

- 1 D. Frohne, *Planta Med.*, 12 (1964) 140.
- 2 D. Frohne, *Planta Med.*, 18 (1970) 1.
- 3 L. Hörhammer und H. Wagner, *Deut. Apoth.-Ztg.*, 103 (1963) 1.
- 4 I. Leifertová, J. Hubík, J. Kudrnáčová und S. Dvořák, *Česk. Farm.*, 22 (1973) 450.
- 5 I. Leifertová, J. Kudrnáčová, J. Hubík und J. Prokeš, *Česk. Farm.*, 24 (1975) 121.
- 6 I. Leifertová, J. Kudrnáčová, J. Prokeš und E. Melicharová, *Česk. Farm.*, 24 (1975) 197.
- 7 Lj. Kraus, in *Pharmakopoea Bohemoslovenica*, 3. Auflage, Avicenum, Praha, 1970, S. 310.
- 8 Lj. Kraus, *Deut. Apoth.-Ztg.*, 114 (1974) 1423.
- 9 R. Klaus, *J. Chromatogr.*, 40 (1969) 235.