

CHROM. 4683

Ein Reagenz zum Nachweis von Acetylen-Derivaten auf der Dünnschichtplatte

Für den dünnenschichtchromatographischen Nachweis von Acetylen-Derivaten, die in grosser Zahl aus Pflanzen isoliert wurden¹⁻⁵, aber auch als Arzneistoffe Verwendung finden⁵, fehlt bisher ein Reagenz mit hoher Empfindlichkeit und hinreichender Spezifität. Von den Metallcarbonylen genügt das Dicobaltoctacarbonyl diesen Bedingungen⁶. Das nicht leicht zugängliche Reagenz ist aber nicht haltbar; zudem ist die Durchführung dieser Nachweisreaktion aufwendig.

Eine weitere Verbindung, die mit Acetylen-Verbindungen eine Farbreaktion ergibt⁷, ist das 4-(4'-Nitrobenzyl)-pyridin ($O_2N-C_6H_4-CH_2-C_6H_4N$) (I), das schon seit längerer Zeit zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von alkylierenden Stoffen verwendet wird⁸⁻¹¹. Eine Lösung von I in Aceton (5%) (Kurzbezeichnung: NBP-Reagenz) gibt mit geringen Mengen eines Acetylen-Derivates nach kurzem Erwärmen auf dem Wasserbad (10 min) eine rote bis violette Färbung (λ_{max} 445–518 nm; Tabelle II)*, die nach Zugabe geringer Mengen Natronlauge (bis pH 9) eine Vertiefung erfährt. I gibt bei Abwesenheit eines Acetylen-Derivates und höherer OH-Ionen-Konzentration auch eine Rotfärbung (λ_{max} 655; 600 nm).

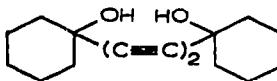
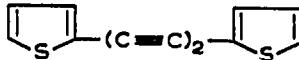
Die Reaktion, die auch zur quantitativen Bestimmung von Acetylen-Derivaten herangezogen werden kann⁷, lässt sich auch auf der Dünnschichtplatte durchführen. Von den in die Untersuchungen einbezogenen Verbindungen (Tabelle I) geben einige diese Reaktion nicht. Für Polyacetylene, die in Arzneipflanzen vorkommen, liegen die Nachweisgrenzen bei der dünnenschichtchromatographischen Analyse bei 0.1–8 μ (Tabelle II). Die Anwendbarkeit des NBP-Reagenzes wurde an mehreren Extrakten aus Pflanzen, von welchen bekannt ist, dass sie Acetylen-Verbindungen enthalten, untersucht (Tabelle III). Es liessen sich nicht alle Polyacetylene in den Dünnschichtchromatogrammen dieser Extrakte nachweisen. Darüber hinaus gaben noch einige Inhaltsstoffe eine Färbung, die sich UV-spektrometrisch nicht als Acetylen-Verbindungen identifizieren liessen. So finden sich z.B. im Dünnschichtchromatogramm eines Extraktes aus *Valeriana officinalis*, in der das Tridecen-(1)-pentain-(3,5,7,9,11) in geringen Mengen nachgewiesen wurde¹², drei Flecken, die kein für Polyacetylene charakteristisches UV-Spektrum besitzen. Extrakte aus den Handelsdrogen *Radix Pimpinellae*¹³ bzw. *Herba Millefolii*^{14,15} gaben Flecken, deren UV-Absorptionskurven nicht mit den der in diesen Pflanzen aufgefundenen Polyacetylene identisch sind. In *Aegopodium podagraria*^{16,17} und *Anthriscus sylvestris*¹⁸ kommen Acetylen-Derivate in so geringer Menge vor, dass sie sich im Dünnschichtchromatogramm der Extrakte nicht mit dem NBP-Reagenz nachweisen liessen; dagegen geben andere Inhaltsstoffe eine positive Reaktion.

Neben Acetylen-Derivaten wurden auch Vertreter anderer Stoffgruppen in die Untersuchungen einbezogen. Eine positive Reaktion mit dem NBP-Reagenz gaben unter anderen 4-Hydroxycumarin und Anthrachinon. Von Verbindungen, die in Pflanzen vorkommen können, zeigten die folgenden keine Farbreaktion mit dem NBP-Reagenz: Ölsäure, Chlorogensäure, Kaffeesäure, Benzaldehyd, Campfer, Thujon,

* Untersuchungen über die Natur der Farbstoffe sind noch nicht abgeschlossen

TABELLE I

DIE MIT DEM NBP-REAGENZ UMGESETZTEN SYNTHETISCHEN UND NATÜRLICHEN ACETYLEN-VERBINDUNGEN

Verbindung	Reaktion	Verbindung	Reaktion
$\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_5-\text{CH}=\text{CH}_2$	+	$\text{CH}_3\text{OOC}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{COOCH}_3$	+
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_4-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CHO}$	+	$\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CO}-\text{NH}_2$	+
$\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-(\text{CH}_2)_5-\text{OOCCH}_3$	+	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{COOC}_2\text{H}_5)_2$	+
$\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_3-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_5$	+	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-\text{J}$	+
$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-\text{C}_3\text{H}_7-n$ OH	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$	+
$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{C}_3\text{H}_7-n$	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-\text{CH}_2\text{OH}$	+
$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CHO}$	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}_3\text{H}_7$	+
$\text{H}_3\text{COOC}-\text{CH}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOCH}_3$	+	$(\text{CH}_3)_2\text{C}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ OH OH	-
$\text{C}_6\text{H}_5-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{C}_6\text{H}_5$	+		-
	+	$\text{HOOC}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{COOH}$	-
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}(\text{Cl})-\text{C}_6\text{H}_5$	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$	-
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	-
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$	-
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CO}-\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{COOH}$	+	$\text{HC}\equiv\text{C}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ OH	-
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4-2-\text{COOH}$	+		

Menthol, Pulegon, β -Jonon, β -Carotin, Pulegonoxid, Santonin, Nardosinon, Cumarin, Aesculetin, Umbelliferon, Herniarin, Daphnetin, Collinin, Xanthotoxin, Imperatorin, Scopoletin, Scopolin, Carvacrol, Thymol, Flavon, Luteolin, Quercetin, Anthron, Dihydroquercetin, Rutin, Apigenin-7-glucosid, Kämpferol. Zusammenfassend ergibt sich, dass die NBP-Reaktion nur in Verbindung mit der UV-Spektroskopie für das Vorliegen eines Acetylen-Derivates beweisend ist.

Material und Methoden

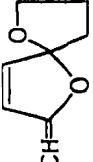
Extraktion des Pflanzenmaterials. 100 g getrocknetes (bzw. 250 g frisches) Pflanzenmaterial wurden bei Raumtemperatur zweimal je zwei Tage mit Äther-Petroläther (Merck, Sdp. bis 40°) (1:1) ausgezogen. Die vereinigten Extrakte wurden filtriert und anschliessend im Wasserbad (40–50°) auf 25 ml eingeengt. Die über

TABELLE II
DIE NACHWEISGRENZEN FÜR EINIGE POLYACRYLIC-VERBINDUNGEN

<i>Verbindung</i>	<i>Isolent aus</i>	<i>Laufmittel</i>	<i>R_F-Wert</i>	<i>Farbung</i>	<i>Nachweisgrenze bei (γ)</i>	<i>λ_{max} des Farbstoffes in vitro (nm)</i>
$\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_3-\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>Arnica chamissonis</i> ¹⁹	I	0.62	rotviolett	0.1	518
$\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-(\text{CH}_3)_2-\text{OOCCH}_3$	<i>Carduus marianus</i> ²⁰	I + II	0.13	dunkelrosa	0.3	445
$\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_3-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_5$	<i>Tanacetum vulgare</i> ²¹ Chlf (4.5.1)	Bzl.-Pae.- Chlf	0.26	rot	8	445
$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-\text{C}_3\text{H}_7-n$ OH	<i>Pimpinella magna</i> ¹³	I	0.2	dunkelrot	+	500
$\text{H}_3\text{COOC}-\text{CH}=\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOCH}_3$	<i>Fomes officinalis</i> ²²	I	0.31	violett	6	500

TABELLE III
ACETYLEN-VERBINDUNGEN, DIE SICH IN DEN PETROLÄTHER-ÄTHER-EXTRAKTEN EINIGER ARZNEIPFLANZEN MIT DEM NBP-REAGENZ NACHWEISEN LASSEN

Pflanzenmaterial	Lauf-mittel	R _F -Wert	Farbe	UV-Maxima des Äther-Euats (nm)	Polyacetylen ^a bzw. Chromophor	Literatur
Wurzel von Petroselinum-Arten (Handelsdroge)	II	0.20 0.72	hellrosa hellrosa	284, 267, 251, 246, 239 285; 269; 256; 241	Falcarnol -CH=CH-CO-(C≡C) ₂ -CO-CH=CH-	23
<i>Petroselinum hirtense</i> Hoffm. (nichtgetrocknete unterirdische Teile)	III	0.76 0.92	blauviolett blauviolett	292, 275, 260 292; 275, 260	-(C≡C) ₂ -CO-CH=CH-	23
<i>Hydrocotyle asiatica</i> L (getrocknete unterirdische Teile)	II	0.15 0.37	violett violett	284, 267, 259, 245 286, 270; 231; 211	-(C≡C) ₂ -CH=CH-	24
<i>Pimpinella anisum</i> L (getrocknete unterirdische Teile)	I	0.30	rosa	336, 314; 296, 280, 266; 250	Aethusin	13
<i>Apium graveolens</i> L (getrocknete unterirdische Teile)	III	0.9	violett	290, 274; 260; 217	Falcarnon	23
<i>Heracleum sphondylium</i> L. (nichtgetrocknete unterirdische Teile)	III	0.23 0.42 0.73	violett blauviolett violett	284, 268, 254, 240, 217 284, 269, 254, 219	-CH=CH-CO-(C≡C) ₂ -CO-CH=CH-	18

Wurzel von <i>Armenia montana</i> L. (Handelsdroge)	II	0.67	blauviolett	+07; 377, 348, 285; 269	-CH=CH-(C≡C) ₅ - 26
Blütenstände von <i>Matriuaria chamo-</i> <i>milla</i> L. (Handelsdroge)	I	0.49 0.60	blau dunkelblau	321, 313, 268, 251; 236 318, 264, 249, 327	 CH ₃ -(C≡C) ₂ -CH=C1-C2-O-C3-C4-C1=O-C4-C3-O-C1-C2-C1=O cis trans 27
<i>Carduus marianus</i> L. (getrocknete unter- irdische Teile)	I + II	0.08 0.13	dunkelrot dunkelrot	375; 349, 325; 308 348, 324; (305); 280; 268	-CH=CH-(C≡C) ₄ - -(CH=CH) ₃ -(C≡C) ₅ - oder -(CH=CH) ₂ -(C≡C) ₂ -CH=CH- -CH=CH-(C≡C) ₂ - -CH=CH-(C≡C) ₃ - -CH=CH-(C≡C) ₅ - -(CH=CH)-(C≡C) ₄ - -CH=CH-(C≡C) ₄ -CH=CH- 20
<i>Tanacetum vulgare</i> L. (getrocknete unter- irdische Teile)	III	0.80	violett	334, 311, 292, 249, 242	Ponticaepoxid 21

^a Für die Zuordnung der Verbindung sind weitere Eigenschaften heranzuziehen

Na_2SO_4 getrocknete Lösung wurde zur dünnenschichtchromatographischen Analyse verwendet.

Dünnenschichtchromatographie. Die Schicht bestand aus Kieselgel HF₂₅₄ (Merck), Schichtdicke 0,25 mm. Als Laufmittel wurden (I) Petroläther (Merck, Sdp. bis 40°), (II) Petroläther-Äther (5:1) und (III) Petroläther-Essigester (3:1) verwendet. Das Reagenz war 5% NBP in Aceton.

Nach Abdecken der einen Hälfte der Platte (20 × 20 cm) wurde mit 10 ml NBP-Reagenz besprüht, unter dem Heissluftföhn getrocknet und erneut 10 ml Reagenz aufgesprüht. Die auftretende Färbung kann durch Besprühen mit NaOH (ca. 10⁻⁵ N; pH 8,5–9) vertieft werden. Auf dem nicht besprühten Teil der Platte wurde das Sorptionsmittel in Höhe der Anfärbungen mit Äther eluiert und das UV-Spektrum gemessen (Spektralphotometer DMR 21, Zeiss), das beim Vorliegen eines Polyacetylen eine charakteristische Feinstruktur besitzt.

Herrn Dr. W. BACKE (Münster) und Herrn E. SEHN (Porto Alegre, Brasilien) danken wir für ihre experimentelle Mitarbeit.

*Institut für pharmazeutische Chemie
der Westfälischen Wilhelms-Universität
Münster (B.R.D.)*

K. E. SCHULTE
G. RÜCKER

- 1 F. BOHLMANN, H. BORNOWSKI UND C. ARNDT, *Fortschr. Chem. Forsch.*, 4 (1963) 138.
- 2 K. E. SCHULTE UND J. REISCH, in H. M. RAUEN (Herausgeber), *Biochemisches Taschenbuch*, Bd. I., Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1964, S. 387.
- 3 G. RÜCKER, *Pharm. Ztg., Ver. Apotheker-Ztg.*, 108 (1963) 1169.
- 4 F. BOHLMANN, *Fortschr. Chem. Forsch.*, 6 (1966) 65.
- 5 K. E. SCHULTE UND G. RÜCKER, in E. JUCKER (Herausgeber), *Fortschritte der Arzneimittelforschung*, in Vorbereitung.
- 6 K. E. SCHULTE, F. AHRENS UND E. SPRENGER, *Pharm. Ztg., Ver. Apotheker-Ztg.*, 108 (1963) 1165.
- 7 K. COEN, *Dissertation*, Universität Münster, 1969.
- 8 E. KOENIGS, K. KÖHLER UND K. BLINDOW, *Chem. Ber.*, 58 (1925) 933.
- 9 I. EPSTEIN, R. W. ROSENTHAL UND R. I. ESS, *Anal. Chem.*, 27 (1955) 1435.
- 10 R. PREUSSMANN, H. SCHNEIDER UND F. EPPLER, *Arzneimittel-Forsch.*, 19 (1969) 1059.
- 11 R. PREUSSMANN, H. HENGY UND H. DRUCKREY, *Ann. Chem.*, 684 (1965) 57.
- 12 K. E. SCHULTE, J. REISCH UND P. BUSCH, *Arch. Pharm.*, 297 (1964) 496.
- 13 K. E. SCHULTE, G. RÜCKER UND W. BACKE, *Arch. Pharm.*, in Vorbereitung.
- 14 F. BOHLMANN, C. ARNDT, H. BORNOWSKI, H. JASTROW UND K. KLEINE, *Chem. Ber.*, 95 (1962) 1320.
- 15 F. BOHLMANN UND H. JASTROW, *Chem. Ber.*, 95 (1962) 1742.
- 16 F. BOHLMANN, C. ARNDT UND H. GLEINIG, *Chem. Ber.*, 94 (1961) 958.
- 17 G. RÜCKER, unveröffentlicht.
- 18 G. RÜCKER, unveröffentlicht.
- 19 K. E. SCHULTE, G. RÜCKER UND K. REITHMAYR, *Lloydia*, 32 (1969) 360.
- 20 K. E. SCHULTE, G. RÜCKER UND H. STIGLER, *Arch. Pharm.*, 303 (1970) 7.
- 21 F. BOHLMANN, C. ARNDT UND H. BORNOWSKI, *Chem. Ber.*, 93 (1960) 1937.
- 22 K. E. SCHULTE, G. RÜCKER UND H. FACHMANN, *Arch. Pharm.*, 302 (1969) 965.
- 23 F. BOHLMANN, *Chem. Ber.*, 100 (1967) 3454.
- 24 E. ABDEL BARY, *Dissertation*, Universität Münster, in Vorbereitung.
- 25 J. SCHMIDT-THOMÉ, *Z. Naturforsch.*, 56 (1950) 409.
- 26 K. E. SCHULTE, J. REISCH UND G. RÜCKER, *Arch. Pharm.*, 296 (1963) 273.
- 27 F. BOHLMANN, P. HERBST, C. ARNDT, H. SCHÖNOWSKI UND H. GLEINIG, *Chem. Ber.*, 94 (1961) 3193.

Eingegangen am 17. Februar 1970