

47)

Angelika Retzow, Jürg Schäublin und Wolfgang Wiegrebe

Aus dem Lehrstuhl Pharmazeutische Chemie I des Pharmazeutischen Institutes an der Universität Regensburg

Densitometrische Bestimmung von Anthronen und Anthrachinonen

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. J. Büchi, Zürich, in Verehrung zum 75. Geburtstag gewidmet.

**PHARMAZEUTISCHE
ZEITUNG**

Zentralorgan für die Apotheker der Bundesrepublik Deutschland

Govi-Verlag GmbH, Frankfurt am Main

Sonderdruck

aus 123. Jahrgang, Nr. 41, Seiten 1808–1810 (12. Oktober 1978)

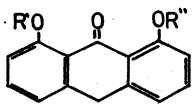
Zusammenfassung

Im Zusammenhang mit unseren Arbeiten über die Metabolisierung antipsoriatisch wirksamer Anthrone wird eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Komponenten eines Gemisches aus Anthronen und Anthrachinonen beschrieben, bei der die Substanzen dünnschichtchromatographisch getrennt und auf der Dünnschichtplatte densitometrisch bestimmt werden.

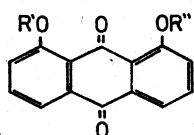
Experimentelle Angaben

1. Substanzen

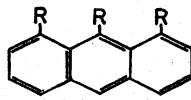
1,8-Dihydroxy-9-anthron (Dithranol) ¹⁾	(I)
1-Hydroxy-8-acetoxy-9-anthron ²⁾	(II)
1,8-Diacetoxy-9-anthron ³⁾	(III)
1,8,9-Triacetoxy-anthracen ³⁾	(IV)
1,8-Dihydroxy-9,10-anthrachinon (Chrysin) ⁴⁾	(V)
1-Hydroxy-8-acetoxy-9,10-anthrachinon ⁵⁾	(VI)
1,8-Diacetoxy-9,10-anthrachinon ⁶⁾	(VII)
1,1',8,8'-Tetrahydroxy-10,10'-bianthron ¹⁾	(VIII)
1,1',8,8'-Tetraacetoxy-10,10'-bianthron ³⁾	(IX)



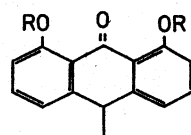
- I: R' = R'' = H
 II: R' = H, R'' = CO-CH₃
 III: R' = R'' = CO-CH₃



- V: R' = R'' = H
 VI: R' = H, R'' = CO-CH₃
 VII: R' = R'' = CO-CH₃



- IV: R = O-CO-CH₃



- VIII: R = H
 IX: R = CO-CH₃

2. Angaben zur Dünnschichtchromatographie

Sorptionsschicht: Kieselgel 60 F₂₅₄ auf DC-Alufolie 20 × 20 cm², Fertigplatte (Merck), ohne Vor- und Nachbehandlung

Trenntechnik: eindimensionale DC

Trennkammer: 10 × 20 × 20 cm³ ohne Kammer-sättigung

Trennstrecke: 150 mm

Startpunkte: 20 mm Abstand vom unteren und 30 mm Abstand vom seitlichen Plattenrand, 20 mm Abstand der Startpunkte voneinander

Laufzeit: 1 bis 1,5 Stunden

Fließmittelgemische (je 50 ml):

A) Toluol-Eisessig 80 + 20

B) Toluol-Eisessig 97 + 3

C) Toluol-Aceton-Eisessig 94 + 4 + 2

Aufgetragene Lösungen:

Substanzgemisch und Einzelsubstanzen in Chloroform, 0,4 – 2 µg in 2 – 8 µl

Auftragetechnik:

2 – 8 µl Lösung werden mit einer Hamilton-Mikroliterspritze (stumpfe Nadel, Totalvolumen 10 µl) im kalten Luftstrom auf den Startpunkt aufgetragen.

3. Angaben zur Densitometrie

Gerät: Shimadzu Zweiwellenlängen-TLC-Scanner, Modell CS-910 mit eingebautem Integrator

Meßmethoden:

- a) Messung des reflektierten Anteiles vom eingestrahlenen monochromatischen Licht.
 b) Messung des reflektierten Fluoreszenzlichtes nach Anregung durch Licht der Wellenlängen 366 bzw. 254 nm. Näheres zu a) und b) bei Hezel⁷⁾.

Lichtquellen: Deuterium- oder Wolframlampe für Meßmethode a); Quecksilberlampe für Meßmethode b).

Dimension des

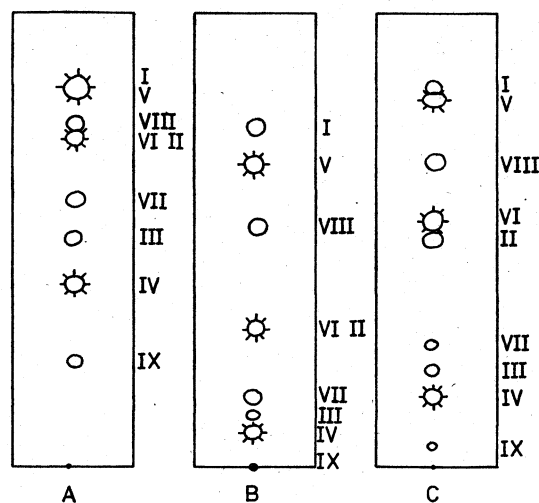
Meßstrahles: 1,25 × 1,25 mm² für zig-zag-scan;
 10 × 1,5 mm² für linear scan.

Abtastmethode und

Tischvorschub: a) Zig-zag-scan, in Richtung des aufsteigenden Fließmittels
 20 mm/min
 b) Linear scan, 20 mm/min

Aufzeichnung des Absorptionsprofils und dessen Integration durch SERVOGOR Modell 2S Zweikanalschreiber.

Abb. 1: Eindimensionale DC von Anthronen und Anthrachinonen



Tab. 1
 hRf-Werte und λ_{max} der densitometrischen Absorptionsspektren

	A	B	C	λ _{max} [nm]
I	87	64	84	360
II	67	23	53	290
III	53	13	25	275
IV	47	9	18	250
V	83	51	81	430
VI	67	23	58	410
VII	57	17	31	250
VIII	70	33	69	365
IX	30	0	7	285

Ergebnisse

1. Dünnschichtchromatographische Trennung

Nach dc-Trennung können alle untersuchten Substanzen im UV-Licht 254 nm durch Fluoreszenzlöschung auf der DC-Platte lokalisiert werden. Außerdem zeigen V und VI im UV-Licht 366 nm eine gelbe, IV bei Einstrahlung von 254 bzw. 366 nm eine blaue Eigenfluoreszenz. Beim Ste-

henlassen der DC-Platte am Tageslicht dunkeln alle Flecken nach, bedingt durch die Instabilität der untersuchten Verbindungen. Die dc-Entwicklung wird daher unter Lichtausschluß durchgeführt. Abb. 1 zeigt die Chromatogramme in den Fließmitteln A, B und C. In Tab. 1 sind die hRf-Werte der untersuchten Anthrone und Anthrachinone angegeben. Daraus wird ersichtlich, daß I, V und VIII durch Fließmittel B gut, III, IV, VII und IX durch Fließmittel A ebenfalls gut, aber II und VI durch Fließmittel C nur noch gerade getrennt werden.

Tab. 2

Substanz	Gehalt aus der Einwaage [$\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$]	Gehalt aus der densitometrischen Bestimmung [$\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$]	Mittelwert [$\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$]	Fehler in %
1,8-Dihydroxy-9-anthron (I)	1,241	1,26 1,135 1,19	1,20	-3,3%
1-Hydroxy-8-acetoxy-9-anthron (II)	1,423	1,43 1,42 1,43	1,43	+0,3%
1,8-Diacetoxy-9-anthron (III)	1,335	1,35 1,37 1,34	1,35	+1,1%
1,8,9-Triacetoxy-anthracen (IV)	1,552	1,57 1,68 1,73	1,66	+7,8%
1,8-Dihydroxy-9,10-anthrachinon (V)	1,117	1,16 1,145 1,10	1,14	+2,1%
1-Hydroxy-8-acetoxy-9,10-anthrachinon (VI)	1,062	1,16 1,05 1,01	1,07	+0,8%
1,8-Diacetoxy-9,10-anthrachinon (VII)	0,912	0,855 0,94 0,96	0,92	+0,9%
1,1',8,8'-Tetrahydroxy-10,10'-bianthron (VIII)	0,839	0,86 0,87 0,89	0,87	+3,7%
1,1',8,8'-Tetraacetoxy-10,10'-bianthron (IX)	1,028	1,09 1,03 1,03	1,05	+2,2%

2. Quantitative Bestimmung eines Gemisches der neun aufgeführten Anthrone und Anthrachinone

Für die Arbeitseichkurven werden Lösungen von je 1 mg Reinsubstanz, genau gewogen, in 5,00 ml Chloroform hergestellt. Von diesen frisch hergestellten Lösungen werden je zweimal verschiedene Volumina (zwischen 2 und 8 μl , entsprechend ca. 0,4 — 2 μg Substanz) auf eine DC-Platte aufgetragen.

Für das Gemisch wird von jeder Substanz 1 mg genau eingewogen und mit Chloroform auf 5,00 ml aufgefüllt. Von dieser ebenfalls frisch hergestellten Lösung werden auf jeder für die jeweiligen Arbeitseichkurven verwendeten DC-Platte je zweimal 5 μl (entsprechend ca. 1 μg Einzelsubstanz) aufgetragen.

Nach der dc-Entwicklung werden die Flecken im UV-Licht 254 nm markiert und bei den in Tab. 1 angegebenen Wellenlängen λ_{max} densitometrisch vermessen. VI wird nach Anregung bei 366 nm fluorimetrisch bestimmt.

Zur Bestimmung der in Tab. 2 aufgeführten Abweichungen (Spalte 5) wurden die dort angegebenen Einwaagen (Spalte 2) auf jeweils 3 DC-Platten mit zugehörigen Arbeitseichkurven entwickelt und vermessen, anschließend wurde gemittelt.

Literatur

1. Auerhoff, H. u. F. C. Scherff, Arch. Pharm. (Weinheim) 293 (1960) 918.
2. Schultz, O.-E. u. H.-H. Schultze-Mosgau, Arch. Pharm. (Weinheim) 298 (1965) 313.
3. Wiegrobe, W. u. A. Gerber, J. Kappler u. Chr. Bayerl, Arzneim.-Forsch., im Druck.
4. Liebermann, C., Ber. dtsh. chem. Ges. 12 (1879) 182.
5. Dimroth, O. u. Th. Faust, Ber. dtsh. chem. Ges. 54 (1921) 3020.
6. Naylor jr., Ch. A. u. J. H. Gardner, J. Amer. Chem. Soc. 53 (1931) 4109.
7. Hezel, U., Angew. Chem. 85 (1973) 334; Kontakte (Merck) 3/77, S. 16 (1977).

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. W. Wiegrobe, Universität Regensburg, Fachbereich Chemie und Pharmazie, Postfach 397, 8400 Regensburg 2.