

Wolfgang Wiegreb und Margit Vilbig

Aus dem Lehrstuhl Pharmazeutische Chemie I der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV der Universität Regensburg

## Identifizierung von Salzen des Acetylcholins und Cholins

Die Behandlung des Acetylcholiniumchlorids mit verdünnter Natronlauge nach Pharm. Helv. VI liefert Cholin, aber kein Trimethylamin. Die anschließende Hypojodit-Oxidation baut Cholin nur zu etwa 2,5% ab. Aus ca. 5 mMol Acetylcholin entstehen Spuren von Jodoform und je etwa 0,1 mMol Trimethylamin und Ameisensäure, daneben 0,2 mMol Kohlendioxid. Hauptprodukt ist ein Cholinperjodid. – Der Nachweis des Cholin-Ions mit Mayers Reagenz nach DAB 8 ist unspezifisch. Als alternative Identitätsreaktionen werden Pyrolysen des Acetylcholins zu Acetaldehyd (Nachweis nach Simon-Awe) bzw. der Cholinsalze zu Formaldehyd (Chromotropsäure-Reaktion) vorgeschlagen.

Cholin **1** ist der einfachste N-quartäre β-Aminoalkohol. Das Verhalten quaternärer cyclischer β-Aminoalkohole unter den Bedingungen des Hofmann-Abbaus wurde von uns untersucht<sup>1)</sup>: Er führt nicht zur Spaltung einer C–N-, sondern einer C–C-Bindung (Abb. 1).

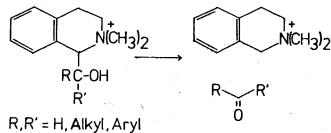


Abb. 1: Hofmann-Abbau quartärer, cyclischer β-Aminoalkohole

Unter diesem Gesichtspunkt interessierte uns das Verhalten des Acetylcholins **2**, das nach Pharm. Helv. VI<sup>2)</sup> erst unter Bedingungen eines Hofmann-Abbaus, dann mit Hypojodit umgesetzt wird.

Pharm. Helv. VI geht im Abschnitt »Prüfung« von einer Lösung aus, die annähernd 0,8% Acetylcholinchlorid und 4% NaOH (ca. 1 N NaOH) enthält. Diese soll, zum Sieden erhitzt, nach einigem Stehenlassen »fischartigen Geruch« entwickeln. Dann wird die so erhaltene Lösung mit 0,1 N Jodlösung (Jod RS) »bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt«, wobei eine gelbe Trübung und der Geruch nach Jodoform auftreten sollen. – Die Kommentare zu Pharm. Helv. V und Pharm. Helv. VI<sup>3)</sup> erläutern die Reaktion als Spaltung des Acetylcholins in Trimethylamin und Ethanol, das Ethanol wird »mit der bekannten Jodoformprobe nachgewiesen«. Diese Art Spaltung wäre nur unter reduzierenden Bedingungen denkbar. Die Haloformreaktion ist kein spezifischer Nachweis des Ethanols, sondern spricht bekanntlich auf H<sub>3</sub>C–COR bzw. CH<sub>3</sub>–CHOH–R–Gruppen an (auf Ausnahmen wird nachstehend hingewiesen). Folglich

reagiert auch Acetaldehyd mit Hypojodit, der aus **2** durch Hofmann-Abbau (C–N-Spaltung) über Vinylacetat und dessen Hydrolyse entstehen könnte (Abb. 2).

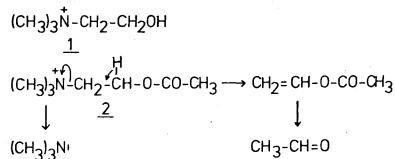


Abb. 2: Hypothetische Bildung von Acetaldehyd durch Hofmann-Abbau von **2**

### Acetaldehyd als Zwischenprodukt?

Gegen die in Abb. 2 formulierte Arbeitshypothese sprachen Literatur-Daten und eigene Befunde: Nach Lit.<sup>4–7)</sup> wird **2** auch nichtenzymatisch außerordentlich schnell verseift. Dieses Verhalten wird durch MO-Berechnungen<sup>8, 9)</sup> gestützt. Wir fanden IR-spektroskopisch (wässrige Lösung, AgCl-Küvetten, Abnahme der CO-Schwingung bei 1744 cm<sup>-1</sup>) und durch Titration (Exp. 1), daß **2** unter den basischen Bedingungen der Pharm. Helv. VI in weniger als 30 Min. bei Raumtemp. vollständig zu **1** verseift wird. Außerdem spricht gegen die o. a. Arbeitshypothese, daß Vinylacetat unter diesen Bedingungen nach unseren IR-Untersuchungen wesentlich langsamer verseift wird (Abnahme der CO-Schwingungen bei 1765 cm<sup>-1</sup>) und zu einem undefinierten roten Feststoff polymerisiert. Dieses Polymerisat bildet sich aus **2** unter den Bedingungen der Pharm. Helv. VI nicht. Freier Acetaldehyd ließ sich auch mit der Reaktion nach Simon-Awe<sup>10)</sup> (Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO]/Piperidin) nicht nachweisen, und die Gaschromatographie (Headspace-Technik) gab keine Hinweise auf Acetaldehyd oder Ethanol (Exp. 2). Nach unseren GC-Untersuchungen enthält aus dem Handel bezogenes **2** Diisopropylether (vermutlich aus der Kristallisation) sowie Spuren von Dimethylamin. – **1** zeigt in diesem GC-System keine Verunreinigungen. Durch NaOH-Behandlung von **2** gemäß Pharm. Helv. VI treten keine neuen Peaks auf, die vorhandenen werden nicht verstärkt (Abb. 3).

Nach diesen Ergebnissen scheidet freier Acetaldehyd als Zwischenprodukt aus. Wir ziehen aus diesen Experimenten den Schluß, daß die in den Kommentaren zur Pharm. Helv. V bzw. VI<sup>3)</sup> vertretene Auffassung mit Sicherheit nicht die Hauptreaktion beschreibt.

### Trimethylamin-Bildung

Über die von der Pharm. Helv. VI als Identitätsreaktion für **2** benutzte Bildung von Trimethylamin aus wäßrig-alkalischer **1**-Lösung wird mehrfach berichtet, wobei nach Kauf-

Herrn Prof. Dr. Dr. Sc. F. Šantavý, Olmütz/Tschechoslowakei, zum 65. Geburtstag in Freundschaft und Verehrung gewidmet.

mann und Vorländer<sup>11)</sup> noch Mengen von 0,2 µg deutlich am Geruch wahrnehmbar sind. Gulewitsch<sup>12)</sup> gibt an, daß erst bei einem 1-Gehalt über 4% und einer Laugenkonzentration von 10% eine schwache Trimethylaminentwicklung von ca. 0,5% zu erwarten ist. Da Pharm. Helv. VI von wesentlich verdünnteren Lösungen ausgeht, prüften wir zunächst das Ausmaß der Zersetzung von **2** unter den dort angegebenen Bedingungen. Wir konnten weder durch Geruch noch durch GC (Exp. 2) Trimethylamin nachweisen (Abb. 3). Auch bei der quantitativen Bestimmung der flüchtigen Basen nach Kjeldahl-Parnas ergab sich keine titrierbare Menge, während die aus **2** durch Hydrolyse entstehende äquimolare Menge **1** unzersetzt gefunden wurde (Exp. 3). Um Tetramethylammoniumhydroxid, wie es nach Abb. 1 möglich wäre, auszuschließen, haben wir den Ansatz nach Pharm. Helv. VI dc nach Bayzer<sup>13)</sup> (modifiziert) daraufhin geprüft (Exp. 4), fanden aber keinen entsprechenden Hinweis. – Aus diesen Versuchen folgt, daß die NaOH-Behandlung nach Pharm. Helv. VI als Identitätsreaktion unsicher ist, weil die Substanz zwar verseift, aber bestenfalls minimal zu Trimethylamin abgebaut wird. Wir haben daher die Hypojodit-bedingten Folgereaktionen untersucht.

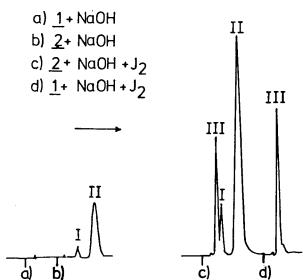


Abb. 3: GC nach Behandeln von **1** und **2** mit NaOH und Hypojodit

I = Dimethylamin;  
II = Diisopropylether;  
III = Trimethylamin

Nach Pharm. Helv. VI entsteht eine gelbe Trübung, die schwach nach Jodoform riecht. Gleichzeitig kann man schwachen Amingeruch wahrnehmen, Indikatorpapier zeigt den basischen Charakter des gasförmigen Stoffes. **1** reagiert erwartungsgemäß identisch. Eine Beteiligung des Acetatrestes an der Reaktion kann somit ausgeschlossen werden. Bei den folgenden qualitativen und quantitativen Analysen wurde dies jeweils durch einen Vergleichsversuch mit **1** in den Standardansätzen A und B (Experimenteller Teil) geprüft.

Bei der basischen Substanz handelt es sich lt. GC um Trimethylamin (Abb. 3). Fraglich war die Identität der gelben Trübung. In der Literatur finden sich wenige Hinweise auf Jodoformbildung aus **1**. Staněk<sup>14)</sup> erwähnt dessen Entstehung mit »KJ<sub>3</sub>-Lösung« in Gegenwart von NaHCO<sub>3</sub>. Mühlmann<sup>15)</sup> beschreibt die Reaktion analog Pharm. Helv. VI als Identitätsreaktion für **1**. Im Kommentar zur Ph. Eur.<sup>16)</sup> findet sich bei »Suxamethoniumchlorid« im Abschnitt »Andere Identitätsreaktionen« der Hinweis, daß nach Pharmakopoea Austria 1960 bzw. DAB 7/DDR (aus dem Cholin-Teil) mit NaOH und Jodlösung Jodoform entstehe (die aktuelle Ausgabe des DAB 7/DDR verwendet diese Reaktion nicht mehr)<sup>17)</sup>. Dagegen wird oft die Bildung sog. »Perjodide« von Aminen bzw. Aminoalkoholen aus Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-haltigen Lösun-

gen beschrieben. So bildet **1** eine braune Jodanlagerungsverbindung (Ennea-Jodid, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH J<sup>-</sup> x J<sub>8</sub><sup>18)</sup>, Trimethylamin, Dimethylamin und das Tetramethylammonium-Ion ergeben nach Staněk<sup>14)</sup> gelbflockige bzw. orangefarbene Perjodide. Eine Reihe von Verbindungen des Typs XJ<sub>2</sub> und X<sub>2</sub>J<sub>2</sub> sind bekannt (X = Triethanolamin, Triethylamin)<sup>18a)</sup>. Weiterhin sind Jodoformanlagerungen an quartären Ammoniumverbindungen beschrieben, z. B. Jodoform-Addukte des Tetramethylammoniumjodids<sup>19)</sup>, des Benzyltrimethylammoniumjodids<sup>20)</sup>, des Hexamethylentetramins<sup>21)</sup>, sowie von **1**<sup>22)</sup>.

Wir konnten in einer Lösung von **2** und 5% NaHCO<sub>3</sub> mit 0,1 N Jodlösung in der Kälte lediglich einen braunen Niederschlag erzeugen, der sich bei Zugabe von NaOH auflöst. Aus den möglichen Spaltprodukten von **2** (Trimethylamin, Dimethylamin, Tetramethylammonium-Ion) entsteht unter den Bedingungen der Pharm. Helv. VI kein Niederschlag. Somit konnte zunächst die Bildung einer dieser Jodanlagerungsverbindungen ausgeschlossen werden.

Die gelbe Substanz aus **2** bzw. **1** war jedoch weder mit Jodoform (Schmp. 118°) noch mit Cholinjodid-Jodoform (2:3) nach Steinkopf und Teichmann<sup>22)</sup> identisch (andere physikalische Eigenschaften, u. a. Schmp. 185° (Z), unlöslich in Ether, abweichendes IR-Spektrum). Weiterhin wurden darin Spuren von Jodoform gc nachgewiesen (Exp. 5), (die theoriebedingte Unempfindlichkeit des FID ist bei dieser Aussage berücksichtigt). Die Genauigkeit der Bestimmung wurde vergrößert durch Verwendung von α-Chlornaphthalin als schwerflüchtiges Lösungsmittel.

Wir konnten zeigen, daß der fragliche »gelbe Niederschlag« auch aus dem Cholinjodid-Jodoform-Addukt nach Steinkopf<sup>22)</sup> entsteht, wenn man es gemäß Pharm. Helv. VI mit Hypojodit behandelt (Abb. 4). Dementsprechend sehen wir dieses Addukt als Zwischenprodukt an. Nach unseren Ergebnissen ist der »gelbe Niederschlag« in erster Linie ein Cholinperjodid, das durch anhaftendes Jodoform zunächst vor der Auflösung bewahrt wird. Damit steht im Einklang, daß durch Waschen mit CHCl<sub>3</sub> farblose Kristalle von Cholinjodid entstehen, die durch IR-Vergleich mit authentischer Substanz und durch DC identifiziert wurden. Jod wurde als Jod-Stärke nachgewiesen und durch Thiosulfat-Titration bestimmt (Exp. 6).

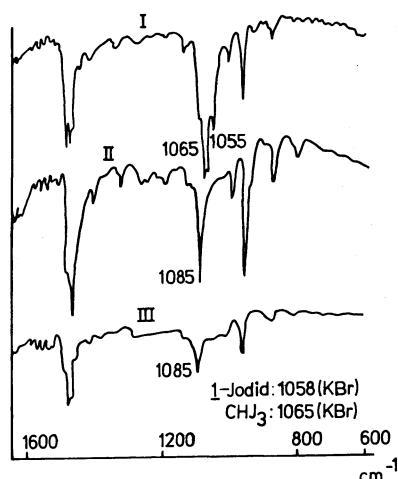


Abb. 4: IR-Spektren zur Identifizierung des gelben Niederschlages  
I: Cholin-Jodoform Addukt<sup>22)</sup>;  
II: Cholin-Jodoform Addukt<sup>22)</sup> mit 8 proz. NaOH und 0,1N Jodlösung 30 Min. auf 60° erwärmt;  
III: gelber Niederschlag nach Pharm. Helv. VI;

Tab. 1: Reaktionsprodukte von 1, 2 und vergleichbaren Substanzen nach Oxidation mit Hypohalogenit u. a.

Ausgangsverbindung	Oxidationsmittel	Reaktionsprodukte	Lit.
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	$\text{CO}_2, (\text{COOH})_2, \text{NH}_3$	26a)
	$\text{NaOCl}$	$\text{CO}_2$	26b)
	$\text{NaOBr}$	$\text{CO}_2, \text{N}_2$	26c)
$\text{CH}_3\text{CHO}$	$\text{J}_2/\text{OH}^-$	$\text{CH}_3\text{COOH}, \text{HCOOH}, \text{CH}_2\text{J}$	26d)
	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	$\text{HCOOH}, \text{HOH}_2\text{C}-\text{COOH}, \text{N}(\text{CH}_3)_3$	26e)
<b>1</b>	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	$\text{N}(\text{CH}_3)_3$	26e)
	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	$\text{N}(\text{CH}_3)_3$	26e)
<b>2</b>	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	$\text{N}(\text{CH}_3)_3$	26e)
	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	$\text{N}(\text{CH}_3)_3$	26e)
$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-\text{CH}_2\text{CHO}$	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	—	—
$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$\text{KMnO}_4/\text{OH}^-$	—	—
	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}^-$	 $\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_3\text{J}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CHO}$ , $(\text{COOH})_2$ , $\text{NH}_3$	26f)

Die Entstehung von Jodoform aus **1** war überraschend. In der Literatur finden sich aber Hinweise, daß Jodoform auch aus solchen Molekülen entsteht, die keine  $\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$ -Gruppe enthalten (Brenzkatechin, Hydrochinon). Die Autoren<sup>23)</sup> postulieren die entsprechenden o- bzw. p-Chinone als Zwischenprodukte, da Resorzin nicht reagiere. Diese Auffassung konnten wir widerlegen (Exp. 7). – Aus Malonsäure soll Jodoform durch Decarboxylierung<sup>24)</sup>, aus Ephedrin nach Hydraminspaltung entstehen<sup>25)</sup>. Tab. 1 gibt eine Übersicht mit **2** bzw. **1** vergleichbarer Substanzen und ihrer Reaktionsprodukte mit Hypohalogenit oder anderen Oxidationsmitteln.

Zieht man aus der zit. Literatur und Tab. 1 Schlüsse auf Reaktionsprodukte von **2** und **1**, so sind Ethanol, Acetaldehyd, Ethylenoxid, Ameisensäure, Essigsäure, Oxalsäure, Glykolsäure und  $\text{CO}_2$  denkbar. – Für Glykolsäure fand sich kein Hinweis; die Farbreaktion mit Diphenylamin nach Feigl<sup>27)</sup> auf Oxalsäure verlief positiv, die dc-Probe bestätigte diesen Befund jedoch nicht. – Mit der Headspace-Technik (Exp. 3) wurden Ethanol, Acetaldehyd und Ethylenoxid, ebenso Methanol ausgeschlossen. Ameisensäure, möglicherweise als Verseifungsprodukt des Jodoforms, wurde durch Reduktion zu Formaldehyd und dessen Reaktion mit Chromotropsäure bestimmt (Exp. 8). –  $\text{CO}_2$  wurde quantitativ als Differenz zum  $\text{CO}_2$ -Gehalt der verwendeten NaOH durch Titration gegen Methylorange bestimmt (Exp. 9). Aus einem Reaktionsansatz mit 4,8 mMol **2** (entspr. dem 2,5-fachen Ansatz der Stammlösung nach Pharm. Helv. VI) konnten wir durch Hydrolyse und Hypojodit-Behandlung folgende Produkte quantitativ bestimmen: 4,68 mMol **1**, Spuren von Jodoform, 0,13 mMol Trimethylamin, 0,19 mMol  $\text{CO}_2$  und 0,095 mMol Ameisensäure. Diese Ergebnisse zeigen, daß der weitaus größte Teil von **2** auch unter den oxidierenden Bedingungen im alkalischen Milieu lediglich verseift wird.  $\text{CO}_2$  wurde zum Vergleich aus einer identischen Reaktion mit **1** bestimmt, um Acetat als Quelle auszuschließen. Auch die Trimethylamin-Entwicklung und der Jodverbrauch wurden mit **1** geprüft: Die Werte entsprechen den für **2** angegebenen (Exp. 9).

Die Werte wurden (s. o.) unter standardisierten Bedingungen erhalten: Aus den Verseifungsversuchen bei Raumtemp. folgt, daß die wesentlichen Umsetzungen beim gelindem Erwärmen mit Hypojodit erfolgen. Wir arbeiteten dementsprechend bei 60°. Diese Temp. wird im Allgemeinen Teil der Pharm. Helv. VI als »warm« bezeichnet. Die Menge 0,1 N Jodlösung wählten wir so, daß auf 875 mg **2** (4,8 mMol) 10,0 ml kamen. Diese Konzentration hat sich als die effektivste erwiesen, bei der dennoch nur ca. 2,5%

umgesetzt wurden. Ein Grund dafür könnte darin liegen, daß das hier eingesetzte Verhältnis Jod: NaOH nicht dem in der Literatur für die Haloform-Reaktion<sup>28)</sup> als optimal angegebenen Verhältnis 1:4 entspricht. Wollte man dies erreichen, so müßte wesentlich mehr 0,1 N Jodlösung zugefügt werden (250 ml), was aber eine im Vergleich zur Pharm. Helv. VI längere Erwärmung erfordern würde. Damit ergäbe sich aber ein weitgehender Zerfall des Hypojodits, dessen Disproportionierungsgeschwindigkeit in Jodat und Jodid schon bei Raumtemp. groß ist<sup>29)</sup>; nach Taylor<sup>30)</sup> verlor eine alkalische Jodlösung nach 30 sec. 22% ihrer auf Hypojodit bezogenen Wirksamkeit. Jodat reagiert aber nach unseren Untersuchungen mit **1** kaum (Exp. 10). Dementsprechend erhielten wir nur 66–75% der mit der o. a. Hypojodit-Lösung gefundenen Trimethylaminmenge, wenn wir den Reaktionsansatz vor dem Erwärmen 10 Min. bei Raumtemp. stehen ließen (Disproportionierung zu Jodat). Ausschluß von Luftsauerstoff verändert die Ergebnisse nicht wesentlich. – Eine entscheidende Schwierigkeit bei den quant. Bestimmungen liegt darin, daß nicht alle Reaktionsprodukte aus ein und demselben Ansatz bestimmt werden können: Wir fanden z. B. nach Wasserdampf-Destillation (Bestimmung des Trimethylamins) nur noch 34,5% der Ameisensäure; ohne Wasserdampf-Destillation konnten andererseits im  $\text{N}_2$ -Strom nur ca. 50% des Trimethylamins erhalten werden. So mußte je ein Spaltprodukt aus jedem Ansatz bestimmt werden. – Da sich auch bei der Hypojodit-Reaktion kein stöchiometrisch eindeutiger Zusammenhang ergab, folgt daraus, daß hier eine unspezifische Reaktion abläuft. Es erscheint uns wenig sinnvoll, bei einem Gesamtumsatz von nur 2,5% nach Zwischenprodukten zu suchen, um daraus auf einen Reaktionsmechanismus schließen zu können.

## Alternativen

Da die Umsetzungen nach Pharm. Helv. VI, abgesehen von der uncharakteristischen Hydrolyse, als Identitätsreaktion zu gering sind, suchten wir nach Alternativen. In der Literatur finden sich Hinweise darauf<sup>31)</sup>, daß bei Erhöhung der Laugen- bzw. Cholinkonzentration die Aminausbeute steigt. So verwendete DAB 7/DDR eine 5%ige Lösung von **2** und ca. 50%ige KOH für eine Identitätsreaktion, die auf dem Trimethylamin-Nachweis mit pH-Papier beruht. Wir fanden bis 8% Trimethylamin, wenn die Lösung nach NaOH-Zugabe auf <50% unter Normaldruck eingeeengt wird. Andere Autoren<sup>32)</sup> berichten über einen Zerfall von **1** unter Pyrolysebedingungen zu Trimethylamin, wobei u. a. auch Acetaldehyd entstehen soll. Nach Szilagyi et al.<sup>33)</sup> gibt es

Unterschiede zwischen **2** und **1** bei kurzem Erhitzen auf 730°: Da unter diesen Bedingungen keine Verseifung eintreten kann, bilden sich unter Methylchlorid-Abspaltung aus **2** Dimethylaminoethylacetat, aus **1** Dimethylaminethanol.

Wir stellten fest, daß **1** und **2** beim trockenen Erhitzen im Reagenzglas Acetaldehyd abspalten, der nach Simon-Awe<sup>10)</sup> nachzuweisen ist. Auch unter standardisierten Bedingungen (Bombenrohr, 400° Metallbad-Temp., 30 sec. Pyrolysedauer) konnten wir das Ergebnis der Reagenzglasversuche dc verifizieren (Exp. 11).

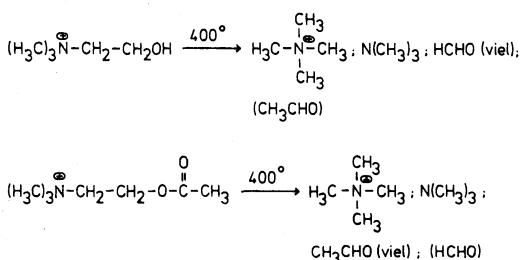


Abb. 5: Pyrolyseprodukte von **1** und **2**

Außerdem bildet sich in beiden Fällen Trimethylamin. Hier liegt demnach ein pyrolytischer Hofmann-Abbau unter CN-Spaltung vor. Daneben wird auch eine C-C-Spaltung wie bei N-quartären cyclischen β-Aminoalkoholen (vgl. Abb. 1) beobachtet:

- Sowohl aus **1** als auch aus **2** entsteht unter den von uns angegebenen Bedingungen Formaldehyd, wie Abb. 5 zeigt.
- Beide quartären Ammoniumsalze liefern Tetramethylammoniumchlorid, das wir dc und durch Vergleich der IR-Spektren nachweisen konnten (Exp. 11).
- Vinylacetat, wie es nach Abb. 2 zu erwarten wäre, konnten wir gc nicht nachweisen (Exp. 11).
- Nach unseren GC-Untersuchungen (Exp. 11) wird aus **1** wesentlich mehr Formaldehyd abgespalten als aus **2**.

Als Identitätsreaktionen für Acetylcholinchlorid **2** empfehlen wir u.a. folgende Nachweise:

- In einem kleinen Reagenzglas, das mit einem angefeuchteten Indikatorpapier bedeckt ist, werden wenige Kristalle Acetylcholinchlorid zum Glühen erhitzt. Das Indikatorpapier färbt sich grün bis blau (Trimethylamin).
- In einem kleinen Reagenzglas, dessen Öffnung mit einem Filterpapier verschlossen ist, das mit einer frisch bereiteten 2,5%igen wäßrigen Lösung von Nitroprussiddinitrat R in Wasser und 1 Tropfen Piperidin R getränkt ist, werden ca. 20 mg Acetylcholinchlorid mit einer Spatelspitze  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$  R geglüht. Das Reagenzpapier färbt sich blauviolett (Acetaldehyd).
- Nachweis der Acetylgruppe mit Lanthannitrat nach Ph. Eur.

Das Bundesgesundheitsamt Berlin hat gebeten (Dtsch. Apoth.-Ztg. 120 (1980) 457), zu zahlreichen Monographien des DAB 8, darunter Cholinchlorid und Cholinhydrogentartrat, Stellung zu nehmen. Diese Monographien lassen das Cholinion durch Fällung mit Mayers Reagens nachweisen. Diesen Nachweis halten wir für unspezifisch, da die dabei entstehenden Kristallnadeln nicht durch ihren Schmp. identifiziert werden. Wir schlagen daher vor, diesen Nachweis durch folgende Texte zu ersetzen:

### Cholinchlorid:

»Eine kleine Spatelspitze (ca. 10 mg) Substanz wird in einem Reagenzglas gerade so lange über freier Flamme erhitzt, bis sich die Festsubstanz völlig zersetzt hat. Man läßt abkühlen und spült das Kondensat mit ca. 1 ml Wasser von der Reagenzglaswand zurück. Anschließend gibt man vorsichtig 3 ml Chromotropsäure-Reagens RN zu. Die Lösung färbt sich sofort dunkelviolett (Cholin).«

### Cholinhydrogentartrat:

»Eine kleine Spatelspitze (ca. 10 mg) Substanz wird in einem Reagenzglas so lange über freier Flamme erhitzt, bis die Substanz völlig verkohlt ist. Man läßt abkühlen und spült das Kondensat mit ca. 1 ml Wasser von der Reagenzglaswand zurück. Anschließend wird vorsichtig mit Chromotropsäure – Reagens RN unterschichtet. Es bildet sich ein dunkelvioletter Ring (Cholin).«

Die Unterschiede in der Zugabe des Reagenzes sind notwendig, da beim Vermischen der kohlenstoffhaltigen Aufschwemmung beim Tartrat die violette Farbe schlechter zu erkennen ist als beim Unterschichten.

Um Verwechslungen der Cholinsalze mit dem  $10^4$ – $10^5$ -fach stärker wirkenden Acetylcholinchlorid (**2**) auszuschließen, empfehlen wir eine Prüfung auf **2** analog Austr. 1960 (Verseifung mit 0,1 NaOH, Rücktitration), zumal Cholinhydrogentartrat (Schmp. 147–152°) und Acetylcholinchlorid (Schmp. 149–152°) gleiche Schmelzbereiche haben. Die Prüfung mit 0,02 N NaOH (...sauer reagierende Verunreinigungen, Cholinchlorid DAB 8) erfaßt Acetylcholin nach unseren Untersuchungen nicht.

### Summary

Treatment of acetylcholiniumchloride with dilute NaOH according to Pharm. Helv. VI saponifies it to choline, but does not produce trimethylamine. Subsequent hypoiodite oxidation degrades choline only to an extent of about 2,5%. From about 5 mmole acetylcholine there arise traces of iodoform, 0,1 mmole of formic acid and trimethylamine, respectively, and 0,2 mmole of carbondioxide. The main product is a choline periodide. – The identification of the choline ion by precipitation with Mayer's reagent according to the German Pharmacopoeia, 8. edition, is unspecific.

As alternative procedures for the identifications we propose pyrolytic degradations of acetylcholine to acetaldehyde (identified according to Simon-Awe) and of choline to formaldehyde (reaction with chromotropic acid).



Wir danken Fräulein stud. pharm. H. Isaak herzlich für die Übersetzung der russischen Literatur und Herrn Prof. Dr. A.B. Sakla, Kairo, für wesentliche Diskussionen.

### Experimenteller Teil

Trocknung bei 50°, 3–4 Torr, bis zur Gewichtskonstanz (ca. 30–60 Min.).

Vorlage: 5,00 ml 0,1 N HCl und 50 ml Wasser, wenn nicht anders angegeben.

Standardansatz A: 875 mg getrocknetes **2** werden im Kjeldahlkolben der Kjeldahl-Apparatur Pharm. Helv. VI mit 50 ml ausgekochtem Wasser gelöst. Nach Zugabe von 50 ml NaOH 7% RS läßt man 20 Min. bei Raumtemp. stehen (Verseifung). Dann wird

0,1 N Jodlösung (10,00 ml) zugesetzt und im Wasserbad von 65–70° 15 Min. erwärmt. Dabei bildet sich der in Pharm. Helv. VI beschriebene gelbe Niederschlag. – Anschließend wird das warme Wasserbad durch ein siedendes ersetzt und die Mischung darin 15 Min. erhitzt. Dabei löst sich der Niederschlag auf, die gelbe Farbe verblaßt. Anschließend wird 30 Min. Wasserdampf durchgeleitet, danach der Inhalt des Kjeldahlkolbens im Eisbad unter  $N_2$  gekühlt, in einen 250 ml Meßkolben überführt und mit ausgekochtem Wasser aufgefüllt. Diese Lösung wird im Exp. 9 verwendet.

Standardansatz B unterscheidet sich von A dadurch, daß man statt des Kjeldahlkolbens einen 250 ml Kolben mit Rückflußküller verwendet, weil keine Wasserdampf-Dest. durchgeführt wird. – Die mit 33–35 ml 3 N HCl angesäuerte und auf 250 ml aufgefüllte Lösung wird für Exp. 5, 6 und 8 verwendet.

#### Exp. 1: Verseifung von 2 gemäß Pharm. Helv. VI

ca. 180 mg getrocknetes 2 werden in 20 ml ausgekochtem Wasser gelöst und nach Zusatz von 2 Tropfen Phenolphthaleinlsg. mit 0,1 N NaOH bis zur Rosafärbung titriert (freie Essigsäure, 1. Verbrauch). Nach Zusatz von weiteren 20,00 ml 0,1 N NaOH wird der Ansatz 10 bzw. 30 Min. stehen gelassen, dann mit 0,1 N HCl bis zum Verschwinden der Rosafärbung titriert (2. Verbrauch). 1 ml 0,1 N NaOH entspricht 18,17 mg 2.

Einwaage 2 (mg)	Titration nach Min.	1. Verbr. (ml) 0,1 N NaOH	2. Verbr. (ml) 0,1 N NaOH	Verseiftes 2 (mg)	Verseifung (%)
187,4	10	0,02	10,25	186,2	99,4
184,9		0,02	10,13	184,1	99,5
180,2	30	0,02	9,91	180,1	99,9
182,3		0,02	10,02	182,1	99,9

#### Exp. 2: GC-Prüfung auf Dimethylamin, Trimethylamin, Acetaldehyd und Ethanol aus 2-bzw. 1-Lösungen nach NaOH-Behandlung

350 mg 2 bzw. 270 mg 1 werden in je 20,0 ml Wasser bzw. 7%iger NaOH RS gelöst und in 50 ml-Schliffkolben, die mit Durchstichkappe und Schlauchklemme gasdicht verschlossen sind, 10 Min. im Ölbad von 130° erhitzt. Nach Abkühlen auf Zimmertemp. werden die Kolben in Thermostaten bei 30° bzw. 50° gehalten. Mit einer gasdichten Spritze werden Proben von 250 µl entnommen.

Angaben zur GC: Säule: Glas; 180 cm; 1/4". – 10% Amine 220+10% KOH<sup>34</sup>. – Injektor-Temp. 70°. – Detektor-Temp. 160°. Säulen-Temp. 40°. – Range: 10<sup>-11</sup>. – Attenuator: 32. –  $N_2$ : 10 ml/Min.;  $H_2$ : 20 ml/Min. Luft: 300 ml/Min. – Gerät: Varian 1440 mit FID.

Die Peaks wurden durch Zuspritzen von Vergleichslösungen identifiziert. Acetaldehyd (Vergleichssubstanz) läßt sich erwartungsgemäß auf dieser Säule nur mit starkem Tailing bestimmen. Ergebnis (Abb. 3): Dimethylamin als Verunreinigung von 2; Trimethylamin, Acetaldehyd und Ethanol lassen sich – auch auf Porapak Q – nicht nachweisen. Die Aufbewahrung bei 30 bzw. 50° brachte keine Unterschiede.

#### Exp. 3a: Bestimmung der wasserdampfflüchtigen Basen aus dem alkalischen 2-Ansatz nach Pharm. Helv. VI

Apparatur: Kjeldahlapparatur nach Pharm. Helv. VI Bd. 1, S. 146, bei der in das Wasserdampf-Zuleitungsrohr zusätzlich ein Hahn eingesetzt worden war.

Versuchsbeschreibung: Im Kjeldahlkolben werden 50,0 ml NaOH 7% RS im Ölbad von 130° zum Sieden erhitzt. – 875 mg getrocknetes 2 werden in 26,3 ml Wasser gelöst und durch den Trichter in die siedende Lauge getropft (1 Tr./Sek.). Anschließend wird der Trichter mit 2×10 und 1×5 ml ausgekochtem Wasser gespült (Konzentration der Stammlösung Pharm. Helv. VI). Dann wird die Apparatur verschlossen, das Gemisch zum Sieden erhitzt und Wasserdampf eingeleitet. So kann vermieden werden, daß durch kondensierten Wasserdampf die Laugenkonzentration im Kjeldahlkolben verringert wird. Die Vorlage wird nach 5, 10, 20, 40

und 80 Min. jeweils gegen eine neue ausgetauscht. Anschließend wird gegen Methylrot-Mischindikator (18 DAB 7) mit 0,1 N NaOH titriert.

nach Zeit (Min.)	Verbr. 0,1 N NaOH (ml)
5	4,99
10	5,02
20	4,98
40	5,01
80	4,98

Apparatur und Methode wurden mit NH<sub>4</sub>Cl p. a. geeicht. Der maximale Fehler beträgt 0,9%.

Ergebnis: keine Amin-Freisetzung

#### Exp. 3b: Bestimmung von 1 nach Verseifung von 2

Das nach 3a im Zersetzungskolben verbliebene Reaktionsgemisch wird im Eisbad auf 20° abgekühlt und in einen 500 ml-Meßkolben überführt. Nach Auffüllen mit Wasser wird aus 25,00 ml Reaktionslösung 1 als Reineckat gefällt, abgetrennt und nach der Zersetzung mit alkalischer Tartratlösung nach Wojahn und Kraft<sup>35</sup> durch Titration des Rhodanidions mit 0,1 N AgNO<sub>3</sub> bestimmt (Indikator: Eisenammoniumsulfat).

1 ml 0,1 N AgNO<sub>3</sub> entspr. 3,4908 mg 1 bzw. 4,5425 mg 2

Einwaage 2	Verbr.	1, berechnet als 2	Hydrolyse
878,8 mg	0,1 N AgNO <sub>3</sub> 9,58 ml	2 870,3 mg	99,0% d.Th.

#### Exp. 4: Prüfung auf Tetramethylammoniumchlorid neben 1 nach Bayzer<sup>13</sup>

Bedingungen: Schicht: Kieselgelfertigplatten ohne Fluoreszenzindikator (Merck Nr. 5721). – Unsere Versuche zeigten, daß bei Verwendung von Platten ohne Fluoreszenzindikator eine befriedigende Trennung der Substanzen auch ohne die von Bayzer<sup>13</sup> empfohlene DC-Elektrophorese möglich ist. – Laufmittel: Methanol-Aceton-25%ige HCl 90:10:4. – Detektion: Dragendorff-Reagenz nach Jung und Henjes<sup>36</sup>. – Laufstrecke: 17 cm. – Auftragsvolumen: 1–4 µl.

#### Vergleichslösungen

I: Aus 350 mg 2 wird eine Stammlösung nach Pharm. Helv. VI (20 ml) hergestellt, mit 21 mg Tetramethylammoniumchlorid (10% der molaren Menge) versetzt und mit 20 ml 7% NaOH RS 1 Std. am Rückflußküller zum Sieden erhitzt (Ölbad 125°). Nach Abkühlen wird die Lösung mit konz. HCl auf pH 4 gebracht und das Wasser i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird mit 70% Ethanol einige Min. gekocht, heiß durch eine Glasfritte G3 gesaugt und auf 10,0 ml aufgefüllt.

II: 270 mg 1 (entspr. der molaren Menge von 350 mg 2) werden wie in I behandelt.

III: 100 mg 1 und 100 mg Tetramethylammoniumchlorid werden zu 10,0 ml mit 70% Ethanol gelöst.

IV: 100 mg 1 und 10 mg Tetramethylammoniumchlorid werden zu 10,0 ml mit 70% Ethanol gelöst.

#### Analysenlösung

V: 350 mg 2, behandelt wie in I ohne Tetramethylammoniumchlorid-Zusatz.

VI: 270 mg 1, behandelt wie in I ohne Tetramethylammoniumchlorid-Zusatz.

R<sub>f</sub>-Werte: 1: 0,28; Tetramethylammoniumchlorid: 0,18.

Ergebnis: Obere Trenngrenze: 40 µg 1 neben 40 µg Tetramethylammoniumchlorid im Auftragsvolumen. – Untere Nachweigengrenze: 1 µg Tetramethylammoniumchlorid neben 40 µg 1 im Auftragsvolumen.

In den Lösungen V und VI konnte Tetramethylammoniumchlorid nicht nachgewiesen werden, d.h. sie enthalten davon in ca. 40 ml weniger als 5 mg. Die Umsetzungsrate im Sinne eines Hofmann-Abbaues von **2** bzw. **1** (C-N-Spaltung) liegt folglich sicher unter 2,5%.

#### Exp. 5: Nachweis von Jodoform im gelben Niederschlag (Abb. 4)

Im Standardansatz B werden 875 mg Acetylcholin unter Hinzufügen von 2,0 ml  $\alpha$ -Chlornaphthalin umgesetzt. Nach Erwärmen auf 65–70° wird nicht weiter erhitzt. Während der gesamten Reaktionszeit wird kräftig gerührt (Magnetrührer). Nach Abkühlen im Eisbad wird die Chlornaphthalinphase abgetrennt, 3  $\mu\text{l}$  werden zur GC verwendet.

Angaben zur GC: Säule: V2A, 90 cm, 1/8". – 3% SE 30 auf Varaport 90 30/100 mesh. – Temperaturen: Injektor 170°, Detektor 225°, Kolonne (programmiert): 5 Min. 20°, dann 5 Min. ansteigend 8°/Min., dann 10 Min. ansteigend 4°/Min. –  $\text{N}_2$ : 25 ml/Min.;  $\text{H}_2$ : 25 ml/Min.; Luft: 250 ml/Min. – Range 10<sup>–11</sup>; Attenuator 1. – Retentionszeiten:  $\text{CHJ}_3$  19,3 Min.,  $\alpha$ -Chlornaphthalin 25,9 Min.

Gerät: Varian 1860 – 42 mit FID

#### Exp. 6:

##### a) Identifizierung des gelben Niederschlags

Der gemäß Pharm. Helv. VI (Standardansatz B) hergestellte und durch Zentrifugieren und Waschen mit kaltem Wasser gewonnene Niederschlag schmilzt bei 185° (Z.) und ist in Wasser und Ether schwer löslich. Beim Waschen mit Aceton färbt sich das Lösungsmittel braun, weiße Kristalle von Cholinjodid (IR-Vergleich) bleiben zurück. Mikronachweis nach Klein et al.<sup>37)</sup> als Perjodid; dc-Identifizierung nach Bayzer<sup>38)</sup>.

Schicht: Alufolie Cellulose »Merck« Nr. 5552. – Laufmittel: Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 (obere Phase). – Detektion: Dragendorff Reagenz nach Thies und Reuther<sup>39)</sup>.

##### b) Bestimmung des Jodgehalts

Standardansatz B wird nach 15 Min. (Entstehung des gelben Niederschlags) abgebrochen, die Mischung auf –5° abgekühlt, der Niederschlag abzentrifugiert und einmal mit Eiswasser gewaschen. Dann werden 50 ml Chloroform zugegeben:  $\text{J}_2$  aus dem »Perjodid« löst sich, weiße Cholinjodid-Kristalle bleiben zurück (s.o.). Unter Röhren wird langsam mit 0,1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung bis zur Entfärbung des Chloroforms titriert: Der Jodgehalt des Niederschlags aus 875 mg **2** entspricht 0,60–0,75 ml 0,1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  Lösung.

#### Exp. 7: Herstellung von Jodoform aus Resorcin mit Hypojodit

20 mg Resorcin werden in 20 ml Wasser gelöst, mit 20 ml 0,1 N Jodlösung und im Eisbad tropfenweise mit NaOH 7% RS versetzt, bis eine Probe Chloroform nicht mehr rosa färbt (ca. 5 ml). Es entsteht ein gelber Niederschlag. Anschließend lässt man 1 Std. im Eisbad stehen, schüttelt mit Ether aus und trocknet über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Der Destillationsrückstand wird aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 120°–120,5°; Mischschmp. mit Jodoform: 120°.

#### Exp. 8

##### a) Photometrische Bestimmungen der Ameisensäure nach Reduktion zu Formaldehyd mit der Chromotropsäure-Reaktion<sup>40)</sup>

25,00 ml des Standardansatzes B aus 872,3 mg **2** werden mit wenigen mg  $\text{NaHSO}_3$  versetzt und auf 100,0 ml (Analysenlösung) aufgefüllt. Die Konzentration an  $\text{HCOOH}$  beträgt ca. 3,5–5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . 10,00 ml dieser Lösung werden in 25 ml Kölben gegeben und im Eisbad gekühlt. 15 cm lange Stücke Magnesiumband (Merck Nr. 5812) werden zu Rollen geformt, kurz mit 10%iger HCl übergossen, um eine etwaige Carbonatschicht zu entfernen, mit Wasser gewaschen und zwischen Filterpapier getrocknet. Je vier dieser Rollen werden zu der  $\text{HCOOH}$ -haltigen Lösung gegeben. Nun werden aus einer Bürette 7,5 ml 25%-ige HCl in Anteilen von 0,2 ml in Abständen von je 1 Min. zugetropft. Nach Zugabe von 3,8 ml wird eine Pause von 5 Min. eingeschoben. Während des Zutropfens soll das

Kölben möglichst nicht geschüttelt werden, da sich sonst eine größere Streuung der Ergebnisse (keine Linearität des Extinktions) ergibt. Nach der HCl-Zugabe lässt man die Lösung bei Zimmertemp. stehen, bis die  $\text{H}_2$ -Entwicklung beendet ist, pipettiert 5,00 ml der Lösung in ein Zentrifugenglas, gibt 5,00 ml Chromotropsäure-Reagenz nach Grant<sup>41)</sup> zu und erhitzt 30 Min. im kräftig siedenden Wasserbad. Da die Reaktion des Formaldehydes davon abhängt, wie weit HCl aus der Lösung entweicht, darf das Zentrifugenglas nicht verschlossen werden (wir erhielten in solchen Fällen nur geringe Extinktionen). Weiterhin ergaben sich zu niedrige Extinktionen, wenn wir 7 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zur Reduktion verwenden. Nach dem Abkühlen werden 2 ml der Mischung mit 1 ml Wasser verdünnt, evtl. ausgeschiedenes Jod (Wärme, Luftsauerstoff) wird durch Zugabe von wenig  $\text{NaHSO}_3$  reduziert (Jod absorbiert beim Maximum des blauen Farbstoffes).

**Eichkurve I:** Da nach Lit.-Angaben<sup>41)</sup> bei diesem Verfahren Ameisensäure nur zu etwa 30% reduziert wird, die Bildung des blauen Farbstoffes zudem vom Restgehalt der Lösung an HCl abhängt, erhält man nur schwierig zu reproduzierende Werte. Es ist unerlässlich, bei jeder Bestimmung eine interne Eichkurve anzufertigen. Hierzu werden ca. 200 mg Ameisensäure genau gewogen (Gehalt nach DAB 7,95,1%), zu 1000,0 ml gelöst und nochmals 10/100 ml verdünnt (Eichlösung). 17–25 ml Eichlösung werden auf je 100 ml (entspr. 3,4–4,8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) aufgefüllt und wie die Analysen-Lösung behandelt, wobei auf die  $\text{NaHSO}_3$ -Zugabe verzichtet wird.

**Blindwert:** 87,5 mg getrocknetes **2** werden zu 100,0 ml in Wasser gelöst und wie die Analysen-Lösung behandelt. Zur Eichkurve des Blindwertes (Eichkurve II) werden 3–6 ml der o.a. Eichlösung verwendet (Die Eichkurven sind nur in engen Bereichen linear).

Alle Extinktionen werden bei 570 nm in 1 cm-Küvetten gegen 45 proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gemessen. Ameisensäurewert und Blindwert werden unter Bezug auf die zutreffenden Eichkurven ermittelt:

**Eichkurve I** (konz. Ameisensäure in  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und E):

3,78	0,106
3,98	0,111
4,18	0,115
4,31	0,125
4,55	0,132

**Eichkurve II** (konz. Ameisensäure in  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und E):

0,75	0,038
0,93	0,042
1,18	0,057

**Ergebnis:** 4,3  $\mu\text{g}$  Ameisensäure in 250 ml Standardansatz B. Die Werte der Ameisensäure-Bestimmung wurden gc verifiziert<sup>42)</sup>.

##### b) Bestimmung des Jodverbrauchs

50,0 ml des aufgefüllten Standardansatzes B werden mit 3 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  angesäuert; Titration mit 0,01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (Indikator: Stärkelösung). – Verbrauch 0,01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ : 9,12 bzw. 9,10 ml, entspr. 5,44 ml 0,1 N Jodlösung, bezogen auf 250 ml.

##### c) Photometrische Bestimmung von 1 nach Bamann und Zeile<sup>43)</sup>.

In 5,00 ml des aufgefüllten Standardansatzes B wird **1** als Reineckat gefällt; der Niederschlag wird in Aceton gelöst und die Extinktion bei 526 nm in 1 cm-Küvetten bestimmt. Die Auswertung erfolgt graphisch.

E	Cholinchlorid in 250 ml (mg)	Gehalt (%)
0,360	647,6	96,6
0,361	650,3	97,0

(872,3 mg **2** entsprechen 670,2 mg **1**)

#### Exp. 9: Bestimmung des Trimethylamins, des Jodverbrauchs und des $\text{CO}_2$ aus Cholin 1

3,211 g getrocknetes **1** (entspr. 4,179 g **2**) werden zu 250,0 ml in ausgekochtem Wasser gelöst (diese Konzentration entspricht der

des Standardansatzes A). 50,0 ml dieser Stammlösung werden nach Standardansatz A bearbeitet (Lösung I). – Weitere 50,0 ml werden wie bei Standardansatz A behandelt, aber statt 0,1 N Jodlösung werden 10,0 ml ausgekochtes Wasser zugegeben (Lösung II).

a) **Trimethylamin-Bestimmung** (Indikator: Methylrot-Mischindikator J 18 DAB 7) (Standardansatz A):

Vorlage 0,01 N HCl: 20,00 ml; Verbrauch 0,01 N NaOH: 17,64 ml, entspr. 0,118 mMol Trimethylamin in 250 ml.

b) **Bestimmung des Jodverbrauchs** in 50,0 ml Lösung I nach Ansäuern mit 7 ml 3 N HCl:

9,47 ml 0,01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  entspr. einem Jodverbrauch von 5,14 ml 0,1 N Jodlösung in 250 ml. – (Vergrößert man die Jodmenge auf 50,0 ml, so bleibt der Jodverbrauch innerhalb der Fehlergrenze gleich).

c) **Bestimmung des Carbonats** nach der Vorschrift für NaOH des DAB 7 (modifiziert): Je 50,0 ml der Lösungen I und II werden nach Zugabe von 0,15 ml Phenolphthaleinlösung (R J 21) auf 15° abgekühl und mit 20,00 ml N HCl tropfenweise im Eisbad versetzt. Nach Zugabe von 10,00 ml 0,01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung, die zuvor mit 0,1 N HCl gegen Methylorange neutralisiert worden waren, wird mit 1 N HCl bis zur Rosafärbung und mit 0,1 N HCl bis zur vollständigen Entfärbung titriert. Dann wird 0,15 ml Methylorange-Mischindikator zugegeben und mit 0,1 N HCl bei Raumtemp. bis zum Farbumschlag nach Grau-Violett titriert. Der Carbonatgehalt entspricht der Differenz der aus den Lösungen I und II ermittelten Werte.

Verbrauch 0,1 N HCl für Lösung I: 1,47 bzw. 1,53 ml;

Verbrauch 0,1 N HCl für Lösung II: 1,09 bzw. 1,15 ml

Ergebnis: 0,19 mMol  $\text{CO}_2$  in 250 ml.

#### Exp. 10: Reaktion von 2 mit Jodat

Zum Standardansatz B werden statt 0,1 N Jodlösung 10,00 ml 0,1 N  $\text{KJO}_3$ -Lösung zugefügt. Nach Abkühlen im Eisbad wird auf 250,0 ml aufgefüllt. Zu 50,00 ml der Lösung werden 0,1 g KJ und 12–14 ml 1 N HCl zum Ansäuern gegeben; Jod wird mit 0,01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung titriert. – Die Differenz zwischen Haupt- und Blindwert entspricht nur 0,13 ml 0,1 N  $\text{KJO}_3$  Lösung.

#### Exp. 11: Pyrolyse von 1 und 2 und Identifizierung der Spaltprodukte

70 mg (0,5 mMol) handelsübliches 1 bzw. 91 mg (0,5 mMol) 2 werden jeweils im Bombenrohr (Länge 200, Ø 10, Wandstärke 2 mm) 30 sek. bei 400° (Metallbadtemp., 2 cm Eintauchtiefe) erhitzt. Der Inhalt der Rohre (1-Ansatz = I, 2-Ansatz = II) wurde in je 10,0 ml Lösungsmittel gelöst. Für die Aldehyde und Tetramethylammoniumchlorid wird  $\text{H}_2\text{O}$  verwendet, für Vinylacetat n-Propanol.

#### GC-Nachweis von Acetaldehyd und Formaldehyd

Säule: Porapak Q

Temp.: Injektor 55°, Säule 92°, Detektor 150°

Abschwächung: 4× bzw. 128×

Retentionszeiten: Formaldehyd 3,1 Min., Acetaldehyd 4,5 Min.

Identifizierung: Zugabe von authentischer Substanz

Ergebnis: 1 und 2 bilden Formaldehyd und Acetaldehyd.

#### GC-Prüfung auf Vinylacetat

Vergleichssubstanz: Vinylacetat (Fa. Ega), einmal destilliert.

Säule: Carbowax 20 M

Temp.: Injektor 100°, Säule 45°, Detektor 150°

Abschwächung: 4×

Retentionszeiten: Vinylacetat 3,4 Min., n-Propanol 10 Min.

Ergebnis: Das GC der Proben I und II zeigt keinen Peak mit der Retentionszeit von Vinylacetat.

#### Identifizierung von Tetramethylammoniumchlorid

Vergleichssubstanz:  $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+\text{Cl}^-$ , aus n-Propanol umkristallisiert.

Die wäßrigen Lösungen aus den Ansätzen I und II werden mit 10%iger HCl angesäuert, i. Vak. eingeelegt und bei 60°/3 Torr getrocknet. Die Substanzen werden aus n-Propanol umkristallisiert und zur IR-Spektroskopie und zur DC verwendet.

IR: Die IR-Spektren sind deckungsgleich.

DC: Bedingungen: s. Exp. 4

Ergebnis: Die Lösungen I und II enthalten Tetramethylammoniumchlorid.

#### Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. W. Wiegrefe und M. Vilbig, Lehrstuhl Pharmazeutische Chemie I der Naturwiss. Fakultät IV – Chemie und Pharmazie – der Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, 8400 Regensburg

#### Literatur

1. W. Wiegrefe, B. Rohrbach-Munz, W. Awe und O. Kirk, Helv. Chim. Acta 58 (1975) 1825.
2. Pharm. Helv. VI, Monographie Acetylcholinium chloratum.
3. Kommentar Pharm. Helv. V, Supplemente I und II, S. 5, Selbstverlag Schweiz. Apoth. Verein, Zürich 1956. – Kommentar Pharm. Helv. VI, S. 196, Selbstverlag Schweiz. Apoth. Verein, Bern 1975.
4. E. Hofmann, Helv. Chim. Acta 13 (1930) 138.
5. E. und M. Kahane, Bull. Soc. Chim. Fr. (1948) 1211.
6. W. Pilz und J. Johann, Z. Klin. Chem. 4 (1966) 215.
7. T. Suzuki und Y. Tanimura, Chem. Pharm. Bull 15 (1967) 674.
8. M. Hegyhati, KFKI Kozlem 17 (1969) 29, ref. C.A. 72, 104316k (1970).
9. M. Hegyhati und M. Farkas, KFKI Kozlem 17 (1969) 11, ref. C.A. 72, 136580 h (1970).
10. W. Awe und F. Demelius, Pharm. Zentralhalle 90 (1951) 73.
11. M. Kaufmann und D. Vorländer, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 43 (1910) 2735.
12. W. Gulewitsch, Z. Physiol. Chem. 24 (1898) 538.
14. V. Staněk, Z. Physiol. Chem. 47 (1906) 83.
15. H. Mühlemann und A. Bürgin, Qualitative Arzneimittelanalyse, 3. Aufl., S. 184, Verlag Ernst Reinhardt, München–Basel, 1956.
16. Ph. Eur., Monographie Suxamethonium chloridum.
17. DAB 7 – DDR, Monographien Succamethonium bromatum bzw. chloratum.
18. V. Staněk, Z. Physiol. Chem. 48 (1906) 343.
- 18a. E. Jozefowicz und C. Wyganowski, Roczn. Chem. 46 (1972) 1953; ref. C.A. 78, 123912s (1973).
19. W. Steinkopf und G. Schwen, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 54 (1921) 2969.
20. H. Benson, W. Niederhauser, T. Riener und W. Hester, J. Am. Chem. Soc. 67 (1945) 601.
21. T. Dahl und O. Hassel, Acta Chem. Scand. 22 (1968) 2036.
22. W. Steinkopf und H. Teichmann, J. Prakt. Chem. 127 (1930) 337.
23. K. Slotta und K. Neißer, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 71 (1938) 1611.
24. M. Brown, J. Chem. Soc. (1956) 2283.
25. E. Schmidt, Arch. Pharm. (Weinheim) 252 (1914) 89.
- 26a. W. Denis, J. Biol. Chemistry 9 (1911) 365.
- 26b. M. Norman, Biochem. J. 43 (1948) 223.
- 26c. A. Friedman und S. Morgulis, J. Am. Chem. Soc. 58 (1936) 909.
- 26d. C. Cullis und P. Swain, J. Chem. Soc. (1962) 3348.
- 26e. W. Lintzel und S. Fomin, Biochem. Z. 238 (1931) 441.
- 26f. R. Pitt-Rivers, Biochem. J. 43 (1948) 223.
27. F. Feigl, Spot Tests in Organic Analysis, 7. Aufl., S. 457, Elsevier-Verlag, Amsterdam 1966.
28. A. Roedig in Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Bd. V/4, 4. Aufl., S. 524, Thieme-Verlag, Stuttgart 1960.
29. F. Cotton und G. Wilkinson, Anorganische Chemie, 2. Aufl. S. 533, Verlag Chemie, Weinheim 1968.
30. K. Taylor, J. Chem. Soc. 77 (1900) 725.
31. R. Kapeller-Adler, Biochem. Z. 235 (1931) 384.
32. A. Babayan, L. Gamburyan und E. Chukhadzhyan, Dokl. Akad. Nauk. Arm. SSR 44 (1967) 29; ref. C.A. 70, 114500p (1969).

33. P. Szilagyi, D. Schmidt und J. Green, *Anal. Chem.* **40** (1968) 2009.
34. G. Umbreit, R. Nygren und A. Testa, *J. Chromatogr.* **43** (1969) 25.
35. H. Wojahn und L. Kraft, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **95** (1955) 444.
36. J. Jung und G. Henjes, *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.* **106** (1964) 108; ref. *C.A.* **62**, 3329a (1965).
37. G. Klein und A. Zeller, *Z. Anal. Chem.* **98** (1943) 151.
38. H. Bayzer, *Experientia* **20** (1964) 233.
39. H. Thies und F. Reuther, *Naturwiss.* **41** (1954) 230.
40. N. Rietbrock und W. Hinrichs, *Klin. Wochenschr.* **42** (1964) 981.
41. W. Grant, *Anal. Chem.* **20** (1948) 267.
42. M. Vilbig, E. Eibler und W. Wiegerebe, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **120** (1980) 644.
43. E. Bamann und K. Zeile, *Pharm. Ind.* **16** (1954) 481.