

**Praktikumsskript
zum
Stas-Otto-Trennungsgang
für das
Praktikum Pharmazeutische Chemie III**

**8. Semester
Institut für Pharmazeutische Chemie
JWG-Universität Frankfurt/Main**

Wintersemester 2013/2014

Liebe Studierende des 8.Semesters!

Frankfurt, Oktober 2013

Dieses Praktikumsskript verdanken wir Uwe Geiß, aber vor allem den Autorinnen Arzu Aktas, Rita Fredebeil, Heike Fritsch und Ulrike Mohr, die als Studentinnen des 8.Semesters im Januar 1999 unter der Betreuung ihrer damaligen Assistentin Birgit Linz das Skript in der hier vorliegenden Version ausarbeiteten.

Dankenswerter Weise haben Frauke Scholz, Benjamin Weichand und Quintus Russe im Sommersemester 2008 alle Farbreaktionen mit den Sprühreagenzien überprüft und eine Tabelle zu Reaktionen mit Säure und Lauge erarbeitet.

Hier noch einige Worte zur Richtigkeit dieses Skriptes. Natürlich sind alle Angaben ohne Gewähr. Sollten also mehrere, voneinander unabhängige Experimente zu anderen Ergebnissen kommen, sollte dies den Assistenten des 8.Semesters mitgeteilt werden. Es wird darauf hingewiesen, dass das Farbempfinden subjektiv ist. Dazu ein Zitat der Studenten:

Wir haben die Farben zu Zweit ausgewertet und ausdiskutiert ob es nun Lachs- oder Aprikotfarben ist, aber zumeist haben wir uns auf den reell existierenden Farbbereich, der auch Männern zugänglich ist (Flieder gibt es nicht, es heißt lila), geeinigt.

Dieses Skript soll das Bearbeiten der Analysen mit Hilfe des Stas-Otto-Trennungsgangs durch folgende Informationen erleichtern:

- Trennungsgang zum Nachweis der Trägerstoffe
- Liste aller verwendeten Sprühreagenzien, deren Herstellung und Behandlung der Platten
- Aufführung der wichtigsten nasschemischen Nachweise
- Liste der Arzneistoffe mit Löslichkeit, Eigenfarbe und Geruch sowie Einordnung in den Trennungsgang
- Schema des Stas-Otto-Ganges mit allgemeinen Hinweisen
- Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten für die einzelnen Arzneistoffgruppen

Und um ein paar Vorworte der vier Autorinnen aufzugreifen:

Jetzt aber genug der Vorrede und 'ran an den Speck! Und nicht verzweifeln. Denkt immer daran: Dies ist das letzte Semester, bald ist alles vorbei...

Viel Erfolg!

Die Assistenten

Inhaltsverzeichnis

1	FLIEßMITTEL	6
2	SPRÜHREAGENZIEN	7
2.1	Allgemeine Sprühreagenzien	7
2.1.1	Mandelins-Reagenz	7
2.1.2	Vanillin/H ₂ SO ₄ -Reagenz	7
2.1.3	Kaliumpermanganat-Reagenz	7
2.1.4	Anisaldehyd/H ₂ SO ₄ -Reagenz	7
2.2	Sprühreagenzien für Amine	7
2.2.1	Ehrlichs-Reagenz.....	7
2.2.2	Dragendorffs-Reagenz.....	7
2.2.3	Ninhydrin-Reagenz	7
2.3	Sprühreagenzien für Carbonsäurederivate	8
2.3.1	Ammoniummolybdat-Reagenz.....	8
2.4	Sprühreagenzien für Phenole	8
2.4.1	Marquis-Reagenz.....	8
2.4.2	Gibbs-Reagenz	8
2.5	Sprühreagenzien für Zucker	8
2.5.1	Thymol/H ₂ SO ₄ -Reagenz	8
2.6	Sprühreagenzien für Grundlagen	8
2.6.1	Molybdato-phosphor-säure-Reagenz	8
3	TRÄGERSTOFFE	9
3.1	Salbengrundlagen	9
3.2	Anorganische Trägerstoffe	9
3.3	Organische Trägerstoffe	10
4	NASSCHEMISCHE NACHWEISE	11
4.1	Allgemeine Hinweise	11
4.2	Glühprobe.....	11
4.3	Sulfatnachweis	11
4.4	Chloridnachweis	11
4.5	Beilsteinprobe.....	12
4.6	Elementaranalyse.....	12
4.6.1	Lassaigne Aufschluss	12
4.6.2	Prüfung auf Stickstoff.....	12
4.6.3	Prüfung auf Schwefel.....	12
4.6.4	Prüfung auf Halogene	12

4.7	Fehling-Reaktion	13
4.8	Liebermann-Burchard-Reaktion.....	13
4.9	Vitali-Morin-Reaktion	13
4.10	Nachweise für Amine.....	13
4.10.1	Reaktion mit Ehrlichs Reagenz	13
4.10.2	Reaktion mit Folins Reagenz.....	13
4.10.3	Diazo-Kupplungsreaktion	13
4.10.4	Reaktion mit Dragendorffs-Reagenz	14
4.10.5	Ninhydrinreaktion.....	14
4.11	Nachweise für N-Heterozyklen	14
4.11.1	Zincke-König-Spaltung	14
4.11.2	Murexid-Reaktion.....	14
4.12	Nachweise für Carbonsäurederivate	14
4.12.1	Hydroxamsäurereaktion	14
4.12.2	Zwickerreaktion.....	15
4.12.3	Reaktion nach Perlia-Büchi (modifizierte Zwickerreaktion)	15
4.13	Nachweise für Phenole.....	15
4.13.1	Eisen(III)chlorid-Reaktion	15
4.13.2	Gibbs-Reaktion	15
4.14	Vorproben zum Stas-Otto-Trennungsgang.....	15
5	GRUPPENEINTEILUNG DER ARZNEISTOFFE	16
5.1	Gruppe B I ₁₋₂	16
5.2	Gruppe B I ₄₋₇	16
5.3	Gruppe B I ₃	17
5.4	Gruppe B II	18
5.5	Gruppe B III	18
5.6	Gruppe B IV	19
5.7	Nicht einordenbare Substanzen	19
6	VORPROBEN MIT SÄURE UND LAUGE.....	20
6.1	Gruppe B I ₁₋₂	20
6.2	Gruppe B I ₄₋₇	20
6.3	Gruppe B I ₃	21
6.4	Gruppe B II	22
6.5	Gruppe B III	22
6.6	Gruppe B IV	23
6.7	Nicht einordenbare Substanzen	23

7 STAS-OTTO-TRENNUNGSGANG	24
7.1 Allgemeine Hinweise	24
7.2 Gruppe B I _{1/2}	25
7.2.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 1	25
7.2.2 Spezialtrennungen	26
7.2.3 Spezielle Hinweise	26
7.3 Gruppe B I ₄₋₇	27
7.3.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 2	27
7.3.2 Spezialtrennungen	27
7.4 Gruppe B I ₃	28
7.4.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 3	28
7.4.2 Spezialtrennungen	29
7.4.3 Spezielle Hinweise	29
7.5 Gruppe B II	30
7.5.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 4	30
7.5.2 Spezielle Hinweise	31
7.6 Gruppe B III	32
7.6.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 5	32
7.6.2 Spezielle Hinweise	32
7.7 Gruppe B IV	33
7.7.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 6	33
7.7.2 Spezielle Hinweise	34
7.8 Nicht einordenbare Substanzen – Bezafibrat	34
8 ANHANG	35

Fließmittel

FM	Gruppe	Zusammensetzung	Mischungsverhältnis
1	BI ₁₋₂	Cyclohexan + Methylenchlorid + Essigsäure + Essigsäure im Glas	50 + 50 + 10
2	BI ₄₋₇	Methylenchlorid + Aceton	90 + 10
3	BI ₃	Cyclohexan + Methylenchlorid + Diethylamin	50 + 40 + 10
4	BII	Methylenchlorid + Aceton + Diethylamin	50 + 40 + 10
5	BIII	Methylenchlorid + Isopropanol + NH ₃ im Glas	50 + 50 + 10
6	BIV	n-Butanol + Eisessig + Isopropanol + Wasser	10 + 25 + 50 + 15
7		Toluol + Xylol + Dioxan + Isopropanol + NH ₃ 25%	10 + 10 + 30 + 30 + 20
8		Methylenchlorid + Ethanol	90 + 10
9		Xylol + Dioxan + Ethanol + NH ₃ 25%	30 + 30 + 40 + 10
10		n-Butanol + Aceton + Ethanol + Diethylamin	90 + 10 + 10 + 10
11	PEG	Methanol + Wasser + Methylenchlorid	90 + 10 + 1
12	Salben	n-Hexan + Diethylether + Eisessig	60 + 32 + 8
13	Zucker	Ethylacetat + Ethanol + Eisessig + ges. Borsäure	50 + 20 + 10 + 10

Methylenchlorid/NH₃ - gesättigt: Methylenchlorid mit 25% NH₃-Lösung schütteln, CH₂Cl₂-Phase verwenden

ACHTUNG – Fließmittel 1 ist sehr anfällig für die Ausbildung einer β -Front, Fließmittel deshalb vor jeder DC neu herstellen und auf Kammersättigung achten

Grau hinterlegte Fließmittel enthalten KMR-Substanzen der Kategorie 3. Die DC-Kammern dieser Fließmittel sind entsprechend mit schwarz-gelbem Klebeband zu kennzeichnen.

Sprühreagenzien

1.1 Allgemeine Sprühreagenzien	
1.1.1 Mandelins-Reagenz	0,05 g Ammoniumvanadat + 10 ml H ₂ SO ₄ (conc.) Lichtgeschützt aufbewahren! auch gut als Reagenz für die Tüpfelplatte geeignet
1.1.2 Vanillin/H₂SO₄-Reagenz	0,5 g Vanillin + 50 ml Ethanol + 1 ml H ₂ SO ₄ (conc.) (Vorsichtig hinzutropfen!) Nach dem Besprühen für 10 Minuten in den Trockenschrank (110°C). Sofort nach dem Herausnehmen bewerten. Lichtgeschützt aufbewahren!
1.1.3 Kaliumpermanganat-Reagenz	0,5 g KMnO ₄ + 50 ml Ethanol
1.1.4 Anisaldehyd/H₂SO₄-Reagenz <i>Nachweisreagenz für Steroide und mehrwertige Alkohole</i>	0,25 ml Anisaldehyd + 5 ml CH ₃ COOH (98%) + 42,5 ml Methanol + 2,5 ml H ₂ SO ₄ (96%) Nach dem Besprühen für 10 Minuten in den Trockenschrank (110°C).
1.2 Sprühreagenzien für Amine	
1.2.1 Ehrlichs-Reagenz <i>Nachweisreagenz für Sulfon-amide und primäre aromatische Amine</i>	0,5 g Dimethylaminobenzaldehyd + 25 ml Salzsäure 36% + 25 ml Ethanol 96% Lichtgeschützt ca. 4 Wochen haltbar!
1.2.2 Dragendorffs-Reagenz <i>Nachweisreagenz für tertiäre Amine und Stickstoffheterocyclen</i>	0,85 g basisches Bismutnitrat + 40 ml H ₂ O + 10 ml CH ₃ COOH versetzen mit 20 ml KJ-Lösung (40%) Stets frisch herstellen!
1.2.3 Ninhydrin-Reagenz <i>Nachweisreagenz für Aminosäuren, Isoniazid, andere primäre aliphatische Amine</i>	0,15 g Ninhydrin (2,2-Dihydroxy-1,3-indandion) + 47,5 ml Isopropanol + 2,5 ml Essigsäure (96%) Nach dem Besprühen für 10 Minuten in den Trockenschrank (110°C).

1.3 Sprühreagenzien für Carbonsäurederivate	
1.3.1 Ammoniummolybdat-Reagenz <i>Nachweisreagenz für Hydroxycarbonsäuren</i>	2 ml Ammoniummolybdat 25% + 2 ml Ascorbinsäure 10% + 2 ml Schwefelsäure 29,45% mischen + 4 ml H ₂ O Nur 1 Tag haltbar!
1.4 Sprühreagenzien für Phenole	
1.4.1 Marquis-Reagenz	1 ml Formaldehyd-Lösung 35% + 5 ml Methanol + 4 ml H ₂ SO ₄ (conc.) Farbe nach dem Besprühen einige Minuten beobachten, dann in den Trockenschrank (110°C). Stets frisch herstellen! Beim Zusammengeben sehr stark exotherm, nur sehr langsam vermischen; am besten fortwährend kühlen. Reagenz muss farblos sein!
1.4.2 Gibbs-Reagenz <i>Nachweisreagenz für in para-Stellung unsubstituierte Phenole, N-unsubstituierte Imidazole</i>	0,2 g 2,6-Dichlor- bzw. Dibromchinon-4-chlorimid + 50 ml Methanol (nötigenfalls filtrieren) Nach dem Trocknen beobachten und danach über NH ₃ -Flasche fächeln, nicht erwärmen.
1.5 Sprühreagenzien für Zucker	
1.5.1 Thymol/H₂SO₄-Reagenz <i>Nachweisreagenz für Zucker</i>	0,25 g Thymol + Mischung aus: 2,5 ml H ₂ SO ₄ (96%) + 47,5 ml Ethanol (96%) DC bei 130°C 10 Minuten erwärmen.
1.6 Sprühreagenzien für Grundlagen	
1.6.1 Molybdatophosphorsäure-Reagenz <i>Färbung der Salbengrundlagen</i>	2,5 g Molybdatophosphorsäure + 50 ml Ethanol Nach dem Besprühen für 5-10 Minuten in den Trockenschrank (150°C). Lichtgeschützt ca. 2 Wochen haltbar!

2 Trägerstoffe

Als Trägerstoffe kommen folgende feste anorganische bzw. organische Stoffe und Salbengrundlagen in Frage:

Anorganische Träger	Organische Träger	Salbengrundlagen
Calciumcarbonat Calciumphosphat Magnesiumoxid Natriumchlorid Talkum Weißer Ton (Bolus alba) Zinkoxid	Fructose Glucose Lactose PEG-Pulver Saccharose Stärke	Hydrophile Salbe Lanolin PEG-Salbe Vaseline Wollwachs

2.1 Salbengrundlagen

Handelt es sich bei der ausgegebenen Analyse um eine Salbengrundlage, so wird folgendermaßen vorgegangen.

- Prüfung auf Löslichkeit in Wasser:
 - Nur Hydrophile Salbe und PEG-Salbe sind wasserlöslich.
 - Hydrophile Salbe ergibt einen positiven Sulfatnachweis.
 - PEG-Salbe reagiert mit Dragendorffs-Reagenz positiv.
 - Identifizierung von PEG-Salben per DC:
 - Fließmittel: 11
 - Laufstrecke: 10 cm in 80 Minuten
 - Auftragslösung: 1%ige Lösung in Dichlormethan
 - Detektion: Besprühen mit Dragendorffs-Reagenz bei 120°C erhitzen => orangerote Flecke
- Prüfung auf Lanolin und Wollwachs (Liebermann-Burchard-Reaktion):
 - Die Lösung von 0,5 g der Salbe in 5 ml Dichlormethan färbt sich nach Zusatz von 1 ml Acetanhydrid und 0,1 ml konz. Schwefelsäure smaragdgrün.
- Identifizierung aller Grundlagen (außer PEG) per DC:
 - Fließmittel: 12
 - Laufstrecke: 12 cm in 20 min
 - Auftragslösung: 2%ige Petroletherlösung der jeweiligen Salbengrundlage
 - Detektion: 1. UV
 - 2. Besprühen mit Molybdatophosphorsäure
 - 5-10 Minuten bei 150°C: Blaufärbung der Substanzflecke
- Hydrophile Salbe kann verursachen, dass der Arzneistoff an der Startlinie verbleibt. Auf Referenz-DCs nach Möglichkeit auf die Substanz tüpfeln.

2.2 Anorganische Trägerstoffe

Zur Prüfung auf anorganische Substanzen wird eine Spatelspitze der Analyse auf einer ausgeglühten Magnesiumrinne in der nichtleuchtenden Bunsenbrennerflamme geblüht.

Ein verbleibender Rückstand weist auf einen anorganischen Träger hin.

ACHTUNG: NaCl kann beim Glühen auf der Magnesiumrinne komplett verschwinden! Ein Rückstand ist somit nicht immer vorhanden, es ist jedoch eine starke Natriumflamme zu sehen. Die-

se sollte mit der Referenz verglichen werden, da auch Arzneistoffe ausgegeben werden, die Natrium enthalten. Die Flamme sollte sich aber weniger intensiv färben.

Bleibt kein Rückstand, wird Verkohlung beobachtet oder tritt Karamelgeruch auf, so sind dies Hinweise auf organische Träger, siehe 2.3, S. 10.

Aus Alkalisalzen organischer Säuren entstehen beim Glühen meist Carbonate, wohingegen aus Alkalisalzen von Sulfonsäuren in der Regel Sulfate bzw. Sulfite resultieren.

Ein verbliebener Rückstand wird in Wasser aufgeschlämmt:

<i>Niederschlag:</i>						<i>Lösung:</i>
CaCO ₃	Ca ₃ (PO ₄) ₂	MgO	ZnO	Bolus	Talkum	NaCl

Der verbliebene Niederschlag wird dann mit verdünnter Salzsäure versetzt und erwärmt:

<i>Niederschlag:</i>		<i>Lösung:</i>			
Bolus	Talkum	CaCO ₃	Ca ₃ (PO ₄) ₂	MgO	ZnO

Nachweisreaktionen:

- Natrium – gelbe, langanhaltende Flammenfärbung
- Chlorid – weiße Fällung mit Silbernitrat aus salpetersaurer Lösung
- Calcium – ziegelrote Flammenfärbung (beim Phosphat sehr schlecht zu erkennen)
– Ausfällung als Calciumoxalat
- Carbonat – CO₂-Entwicklung beim Ansäuern
– Trübung von Bariumhydroxidlösung
- Phosphat – gelbe Fällung mit Ammoniummolybdatoreagenz aus salpetersaurer Lösung;
evtl. Erhitzen nötig
- Magnesium – Ausfällung als Magnesiumammoniumphosphat
– als hellroter Farblack mit alkalischer Titangelblösung (Phosphat gibt falsch-positiven Nachweis)
- Zink – nach Alkalisieren und Zugabe von Dithizon pinkfarbig
– ZnO beim Erhitzen gelb/beim Abkühlen wieder weiß (Thermochromie)
- Aluminium – bildet in neutraler oder essigsaurer Lösung mit Morin eine intensiv fluoreszierende kolloidale Suspension eines Farblackes
- Bolus/
Talkum – Bolus (Aluminiumsilicat) und Talkum (Magnesiumsilicat) geben Glührückstände, die sich in heißer konzentrierter Salzsäure nicht vollständig lösen!
– Mit dem Niederschlag wird ein alkalischer Aufschluss nach DAB durchgeführt. Danach können Aluminium bzw. Magnesium nachgewiesen werden.
– Diese wasserunlöslichen Träger bleiben bei Ausschüttelungsoperationen zwischen den Phasen suspendiert und sollten möglichst abgetrennt werden.

2.3 Organische Trägerstoffe

- **Löslichkeit** in Wasser: Fructose, Glucose, Lactose, PEG und Saccharose gut löslich, Stärke erst in der Hitze
- Positive **Fehling**reaktion auf reduzierende Zucker: Fructose, Glucose und Lactose
- **Stärkenachweis** mit Iodlösung: Der Zusatz von einigen Tropfen Iodlösung zum Feststoff ergibt Blaufärbung.

- PEG-Pulver lässt sich genauso wie PEG-Salbe mit Dragendorffs-Reagenz nachweisen.

Identifizierung der Zucker per DC:

Fließmittel: 13

Auftragslösung: 0,1%ige Lösung in H₂O/EtOH (1:2)

Detektion: 1. UV

2. Besprühen mit Thymol/H₂SO₄

5-10 Minuten bei 110°C: Braunfärbung der Zucker

3 Nasschemische Nachweise

3.1 Allgemeine Hinweise

Die Reaktionen sind, wenn nicht anders angegeben, für eine Spatelspitze Substanz beschrieben.

Blind- bzw. Vergleichsproben sind unbedingt erforderlich.

Reaktion durchführen mit:

1. Arzneistoff, der negativ reagieren sollte
2. Arzneistoff, der positiv reagieren sollte (ggflls. vermuteter Arzneistoff)
3. eigene Probe (Ursubstanz und/oder Trennungsgangfraktionen)
4. wenn möglich: Positivkontrolle+Träger+schon identifizierte Arzneistoffe in der Analyse, um Störungen weitgehend auszuschließen

3.2 Glühprobe

Etwas Substanz auf eine ausgeglühte Magnesiumrinne bringen und in die nichtleuchtende Bunsenbrennerflamme halten.

→ **Nachweis für Natrium:** intensiv gelbe Färbung (wichtig – lang anhaltend)

Calcium: rötlich

Zucker: Karamelgeruch

Harnstoffderivate, quart. Ammoniumverb.: Ammoniakgeruch

Für die Flammenfärbung von Natrium und Calcium eine Spatelspitze Substanz mit verdünnter HCl versetzen, ein ausgeglühtes Magnesiastäbchen eintauchen und in die Flamme halten. Die Calciumfärbung ist bei Calciumcarbonat gut zu erkennen, beim Phosphat eher schlecht (Vergleich!).

3.3 Sulfatnachweis

Die Lösung von etwa 45 mg Substanz in 5 ml Wasser wird mit 1 ml Salzsäure 7 % und 1 ml Bariumchloridlösung versetzt.

Dabei entsteht ein weißer Niederschlag.

Bariumchloridlösung: 0,61 g Bariumchlorid werden in 10 ml Wasser gelöst.

3.4 Chloridnachweis

2 ml einer Lösung der Substanz werden mit Salpetersäure 12,5 % angesäuert. Nach Zusatz von 0,4 ml Silbernitratlösung wird geschüttelt und stehengelassen, wobei sich ein zusammenballender, weißer Niederschlag bildet, der in 17 %iger Ammoniaklösung leicht löslich ist.

Silbernitratlösung: 0,425 g AgNO₃ werden in 10 ml Wasser gelöst (Vor Licht geschützt lagern!)

3.5 Beilsteinprobe

Kupfercent ausglühen; etwas Substanz auf den Cent geben und in die nichtleuchtende Bunsenbrennerflamme halten.

→ **Nachweis für Halogene:** Grüne Flammenfärbung

Anmerkung: Die Arzneistoffe können auch als Chloridsalze ausgegeben werden.

3.6 Elementaranalyse

3.6.1 Lassaigne Aufschluss

Durchführung nur im sonst leeren Abzug!

20-50 mg **trockene** Substanz werden auf den Boden eines Mikroreagenzglases gegeben. Ins oberen Drittel des Reagenzglases wird ein maximal **erbsengroßes** Stück Natrium gegeben. Man erhitzt das Reagenzglas **langsam** von oben nach unten. Das Natriumstück schmilzt dabei zu einer metallischen Kugel und gleitet auf die Analysesubstanz. Wenn das geschehen ist, **glüht man** das Gemisch Natrium-Substanz **einige Minuten lang** stark durch und lässt das Glas in Rotglut in ein Becherglas mit 3 ml Wasser fallen. Dabei zerbricht das Reagenzglas. Man filtriert und zieht den Rückstand mit 3 – 4 ml heißem Wasser aus. In Teilen des Filtrats wird auf Stickstoff, Schwefel und Halogene geprüft.

3.6.2 Prüfung auf Stickstoff

Ein Drittel des Filtrats wird mit einer Spatelspitze Eisen(II)-sulfat versetzt und einige Minuten zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen löst man das entstandene Eisenhydroxid durch vorsichtige Zugabe von 6N-Salzsäure (**Überschuss vermeiden**). Enthielt die Substanz Stickstoffverbindungen, so tritt spätestens nach dem Erwärmen eine blaue Färbung oder Fällung auf (Berliner Blau). Im Zweifelsfall filtriert man die Lösung und gibt etwas Eisen(III)-chlorid zum Filtrat, das sich bei positivem Ausfall blau färbt. Bei schlechtem Aufschluss oder geringem Stickstoffanteil zeigt die Lösung nach einigem Stehen eine grünblaue Färbung. Bleibt die Lösung gelb, war kein Stickstoff anwesend.

Anmerkung: Die Probe kann bei schwefelreichen Verbindungen versagen (Rhdanidbildung). Schlecht nachweisbar sind zyklisch gebundene Stickstoffe oder flüchtige Stickstoffe.

3.6.3 Prüfung auf Schwefel

Ein Drittel des Filtrats wird mit einigen Tropfen einer frisch bereiteten, ca. 2,5 %igen Natriumpentacyanoferrat(II)-Lösung versetzt. Bei Anwesenheit von Schwefelverbindungen in der Substanz entsteht eine violette Färbung, die nach blutrot übergeht.

Anmerkung: Schlecht nachweisbar ist Schwefel in hohen Oxidationsstufen (z.B. in Sulfongruppen).

3.6.4 Prüfung auf Halogene

Ein Drittel des Filtrats wird mit 3 N-Salpetersäure vorsichtig angesäuert und 2 – 3 Minuten zum Sieden erhitzt (**Abzug! $H_2S\uparrow$ $HCN\uparrow$**). Die noch heiße Lösung prüft man wie gewohnt mit Silbernitratlösung (s. 3.4).

3.7 Fehling-Reaktion

Die Substanz zu 0,5 ml einer Mischung aus gleichen Teilen Fehlingscher Lösung I und II geben und anschließend im Wasserbad (bis zu 30 Minuten) erhitzen.

→ **Nachweis für reduzierende Verbindungen (Aldehyde, Zucker, Hydrazinderivate, Brenzcatechine):** roter bis rotbrauner Niederschlag

Anmerkung: Ascorbinsäure (evtl. Isoniazid) ergeben schon in der Kälte diesen Niederschlag.

Fehling I: 6,9 g CuSO_4 werden in 80 ml Wasser gelöst, das 0,1 ml Schwefelsäure (96 %) enthält; mit Wasser wird zu 100 ml verdünnt.

Fehling II: 35,2 g Kaliumnatriumtartrat und 15,4 g Natriumhydroxid werden in Wasser zu 100 ml gelöst.

3.8 Liebermann-Burchard-Reaktion

Die Substanz in 2 - 3 ml Dichlormethan lösen, 10 Tropfen Acetanhydrid und 2 - 3 Tropfen konz. Schwefelsäure hinzusetzen.

→ **Nachweis für Steroide:** Blaue bis grüne Färbungen

3.9 Vitali-Morin-Reaktion

5 mg Substanz und 0,5 ml rauchende HNO_3 werden auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Nach Erkalten löst man den gelblichen Rückstand in 5 ml Aceton und tropft bis zur Färbung etwa 1 ml 0,1 N ethanolische KOH zu.

→ **Nachweis für Tropasäureester und quartäre Ammoniumverbindungen:** Auswertung s. Auterhoff/Kovar S. 66

3.10 Nachweise für Amine

3.10.1 Reaktion mit Ehrlichs Reagenz

Die Substanz wird in drei Tropfen Methanol gelöst bzw. angelöst und mit einem Tropfen Ehrlichs-Reagenz versetzt.

→ **Nachweis für primäre aromatische Amine:** Gelb- bis Orangefärbung

Anmerkung: Nach 10 Sekunden deutlich dunkler als eine Blindprobe.

3.10.2 Reaktion mit Folins Reagenz

Etwas Substanz in Wasser lösen und mit einer schwach alkalischen Lösung von Folins Reagenz (1,2-Naphthochinon-4-sulfonsäure, ca. 0,5 %) versetzen.

→ **Nachweis für primäre aliphatische Amine:** rotviolette Färbung (Ausfällung im Säuren)

Anmerkung: Sekundäre aliphatische Amine ergeben nur eine gelbe Färbung, primäre aromatische Amine geben schon im Alkalischen einen roten Niederschlag.

Eine alternative Durchführung findet sich auch im Auterhoff/Kovar.

3.10.3 Diazo-Kupplungsreaktion

50 mg Substanz werden in 1 ml 10,5 % Salzsäure gelöst und mit 2 Tropfen Diazo-Reagenz I versetzt. Man gießt die Lösung in 2 ml Diazo-Reagenz II.

→ **Nachweis für primäre aromatische Amine:** Orangerote Färbung oder Fällung

Anmerkungen: Beim Versetzen mit Diazo-Reagenz I färben sich Bamipin rot, Metamizol-Na blau und Phenazon grün.

Diazo-Reagenz I: 1 g NaNO_2 in 10 ml H_2O

Diazo-Reagenz II: 0,05 g 2-Naphtol in 10 ml 12 % NaOH

3.10.4 Reaktion mit Dragendorffs-Reagenz

Die Substanz in 0,5 ml Wasser lösen, ein Tropfen Salpetersäure und ein Tropfen Dragendorffs Reagenz dazugeben.

→ **Nachweis für tertiäre Amine, Stickstoffheterocyclen:** gelb-orange bis braun-orange gefärbter Niederschlag

Anmerkung: Sekundäre Amine geben schwache Reaktionen.

3.10.5 Ninhydrinreaktion

Zu 1 ml der zu prüfenden neutralen Lösung gibt man einige Tropfen einer 0,1 %igen Ninhydrinlösung und erhitzt zum Sieden.

→ **Nachweis für Aminosäuren:** Rötliche, violette bis blaue Färbungen

Anmerkung: Auch sekundäre Amine reagieren. Die Reaktion verläuft außerdem positiv bei Ascorbinsäure und Isoniazid.

3.11 Nachweise für N-Heterozyklen

3.11.1 Zincke-König-Spaltung

5 mg Substanz mit 10 mg 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol verreiben und das Gemisch auf der Magnesiumrinne kurz schmelzen. Die erkaltete Schmelze in 2 ml 0,5 N ethanolischer KOH lösen.

→ **Nachweis für Pyridinderivate:** tiefrote Färbung

Anmerkung: Die Farbe schlägt beim Ansäuern irreversibel nach gelb um

3.11.2 Murexid-Reaktion

Die Substanz wird in einer kleinen Porzellanschale mit 0,1 ml Wasserstoffperoxidlösung 30 % und 0,3 ml Salzsäure 7 % auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, bis sich ein gelblich-roter Rückstand gebildet hat. Dieser färbt sich auf Zusatz von 0,1 ml Ammoniaklösung 3,5 % rotviolett.

Der Versuch kann durch Calciumionen gestört werden.

→ **Nachweis für Xanthine**

3.12 Nachweise für Carbonsäurederivate

3.12.1 Hydroxamsäurereaktion

Für Carbonsäuren:

100 mg Substanz werden mit 6 Tropfen Thionylchlorid auf dem Wasserbad erhitzt, bis keine sauer reagierenden Dämpfe mehr auftreten oder bis der Rückstand trocken ist.

Ab hier auch für Ester, Amide und Anhydride:

Man gibt 1 ml 7 %ige Hydroxylaminlösung hinzu und versetzt mit 2 N-methanolischer KOH bis zum Umschlag nach Blau. Schließlich fügt man einen Überschuss von 5 Tropfen der Lauge zu. Es wird kurz zum Sieden erhitzt, abgekühlt und mit 3 N Salzsäure bis zum Verschwinden der Blaufärbung versetzt. Nach Zugabe einiger Tropfen einer 10 %igen Eisen(III)-chlorid-Lösung tritt Rotfärbung auf.

3.12.2 Zwickerreaktion

Auf einer Tüpfelplatte werden 10 mg Substanz mit 10 Tropfen Zwickerreagenz I versetzt. Nach Zugabe von 2 Tropfen Zwickerreagenz II entsteht bei positivem Verlauf eine bleibende Violett färbung.

→ **Nachweis für Barbiturate (Lactamstruktur)**
auch für Hydantoine, Purine, Pyridin- und Piperidinderivate, Sulfonamide

Anmerkung: Isoniazid und einige andere Substanzen verhindern diese Reaktion.
Zwickerreagenz I: 0,1 g Kobalt(II)nitrat in 10 ml Methanol
Zwickerreagenz II: 1 g Piperidin in 10 ml Methanol

3.12.3 Reaktion nach Perlia-Büchi (modifizierte Zwickerreaktion)

10 mg Substanz werden in 2 ml einer Pyridin-Dichlormethan-Mischung (1:9) gelöst und mit 1 ml Fehlingscher Lösung I geschüttelt. Es erfolgt eine Färbung der Dichlormethanphase.

→ **Nachweis für Barbiturate:** Violett
Hydantoine und Saccharin: Blau
Thiobarbiturate und Indometacin: Grün

3.13 Nachweise für Phenole

3.13.1 Eisen(III)chlorid-Reaktion

Die Substanz in 0,5 ml Wasser lösen (bei schlecht wasserlöslichen Substanzen aufkochen und nachfolgend abkühlen) und mit einem Tropfen Eisen(III)chloridlösung (5 %) versetzen.

→ **Nachweis für Phenole:** Violett färbung
Brenzkatechine: Grün färbung
Hydroxamsäuren und Pyrazolone: Rot-Violett färbung

3.13.2 Gibbs-Reaktion

2 ml wässrige Probelösung (ca. 5 mg Substanz) mit 2 ml kaltgesättigter Boraxlösung und 1 ml Dichlorchinonchloriminlösung (0,1 %ig in Methanol) versetzen.

→ **Nachweis für in para-Stellung unsubstituierte Phenole, N-unsubstituierte Imidazole, Theophyllin:** Tiefblaue Färbung

3.14 Vorproben zum Stas-Otto-Trennungsgang

Es empfiehlt sich, je eine saure, neutrale und basische Ausschüttelung aus einer wässrigen Probelösung gegen Ether durchzuführen. Durch Auftüpfeln der Probe auf ein Stück einer DC-Platte und anschließendes Ansprühen mit verschiedenen Sprühreagenzien bekommt man Hinweise auf die Detektionsmöglichkeiten seiner Analyse.

4 Gruppeneinteilung der Arzneistoffe

4.1 Gruppe B I₁₋₂

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
1	Acetylsalicylsäure	Ethanol	weiß/transparent
2	Barbital	Ethanol	weiß/transparent
3	Benzylpenicillin	Methanol	weiß
4	Bufexamac	Methanol	weiß
5	Captopril	Methanol	weiß
6	Diclofenac	Wasser	schmutzig weiß
7	Ethinylestradiol	Aceton	weiß
8	Furosemid	Methanol	weiß
9	Glibenclamid	Ethanol	weiß
10	Hydrochlorothiazid	Ethanol	weiß
11	Ibuprofen	Ethanol	weiß
12	Indometacin	Ethanol	weiß
13	Paracetamol	Ethanol	weiß
14	Phenobarbital	Ethanol	transparent
15	Phenprocoumon	Methanol	weiß
16	Phenytoin	Methanol	weiß
17	Salicylsäure	Ethanol	weiß
18	Tolbutamid	Ethanol	weiß/transparent

4.2 Gruppe B I₄₋₇

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
20	Dexamethason	Ethanol	weiß
21	Hydrocortison	Methanol	weiß
22	Leflunomid	Methanol	weiß
23	Levonorgestrel	Ethanol	weiß
24	Menadion	Ethanol	gelb
25	Prednisolon	Ethylacetat	weiß
26	Spironolacton	Ethylacetat	weiß
109	Prednisolonacetat	Ethanol	weiß

4.3 Gruppe Bl₃

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
27	Allopurinol	Ethanol	weiß
28	Amitriptylin	Ethanol	weiß
29	Benzocain	Ethanol	weiß/transparent
30	Biperiden	Ethanol	weiß
31	Carbamazepin	Ethanol	weiß
32	Chloramphenicol	Ethanol	weiß
33	Chlordiazepoxid	Ethanol	gelblich
35	Clotrimazol	Aceton	weiß
36	Coffein	Methanol	weiß
37	Diphenhydramin	Ethanol	weiß
38	Flunarizin	Ethanol	weiß
39	Levomepromazin	Ethanol	weiß
40	Levomethadon	Ethanol	farblos
41	Loperamid	Ethanol	weiß
42	Miconazol	Ethanol	weiß
43	Nicotinamid	Ethanol	weiß
44	Nitrazepam	Methanol	transparent
45	Oxazepam	Ethanol	transparent
46	Papaverin	Wasser	weiß
47	Phenazon	Aceton	weiß
48	Prazepam	Methanol	farblos
49	Propyphenazon	Aceton	weiß
50	Telmisartan	Methanol	weiß
51	Terfenadin	Dichlormethan	weiß
52	Theobromin	Methanol	weiß
53	Theophyllin	Methanol	weiß
54	Triamteren	Dichlormethan	gelb
55	Verapamil	Ethanol	weiß

4.4 Gruppe B II

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
56	Ambroxol	Methanol	weiß
57	Atropinsulfat	Ethanol	weiß
58	Bamipin	Methanol	weiß/farblos
59	Chinidin	Methanol	weiß
60	Chinin	Ethanol	weiß
61	Chloroquin	Methanol	weiß
62	Chlorpromazin	Ethanol	fast weiß (rötlich)
63	Clonidin	Methanol	weiß
64	Dextromethorphan	Ethanol	weiß
65	Lidocain	Methanol	weiß
66	Metoclopramid	Ethanol	weiß/farblos
67	Prazosin	Ethanol	weiß
68	Procain	Ethanol	weiß
69	Promethazin	Methanol	weiß
70	Propafenon	Methanol	weiß
71	Propranolol	Ethanol	weiß
72	Tetracain	Ethanol	weiß
73	Thiamazol	Ethanol	weiß
74	Tramadol	Ethanol	weiß
75	Trapidil	Ethanol	weiß
76	Trimethoprim	Ethanol	weiß
77	Xylometazolin	Ethanol	weiß
78	Yohimbin	Ethanol	weiß

4.5 Gruppe BIII

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
79	Atenolol	Ethanol	weiß
80	Clioquinol	Ethylacetat	braunorange
81	Etilefrin	Ethanol	weiß
82	Fenoterol	Methanol	weiß
83	Metoprolol	Ethanol	weiß

4.6 Gruppe B IV

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
84	Acarbose	Wasser	hellgelb/hellorange
85	Aciclovir	Wasser	weiß
86	Ampicillin	1 N NaOH	hellgelb
87	Ascorbinsäure	Methanol	weiß/transparent
88	Benserazid	Methanol	hellorange
89	Cefaclor	Wasser	orange
90	Cimetidin	Methanol	weiß
91	Cromoglicinsäure	Wasser	fast weiß
92	Doxycyclin	Methanol	fast weiß (orange)
93	Isoniazid	Wasser	weiß/transparent
94	Levodopa	Wasser	weiß
95	Metamizol	Ethanol	weiß
96	Minocyclin	Ethanol	grünlich
97	Nikotinsäure	Ethanol	weiß
98	Nystatin	Methanol	hellgelb/hellorange
99	Pyridoxin	Ethanol	weiß
100	Rutosid	Methanol	gelb
101	Scopolamin-N-butylbromid	Aceton	weiß
102	Sotalol	Methanol	weiß
103	Sulfamethoxazol	0,1 N NaOH	weiß
104	Sulfasalazin=Salazosulfapyridin	Methanol	orange (intensiv)
105	Thiamin	Methanol	weiß
106	Trospiumchlorid	Methanol	weiß

4.7 Nicht einordenbare Substanzen

Nr.	Arzneistoffname INN	Löslichkeit	Farbe Feststoff
107	Bezafibrat	Ethanol	weiß

5 Vorproben mit Säure und Lauge

Sämtliche Färbungen sind, wie bei den nasschemischen Nachweisen, für eine Spatelspitze Substanz beschrieben. Blindproben und, soweit ein Verdacht auf eine mögliche Substanz besteht, Referenzsubstanz sind zwingend erforderlich.

Einige Arzneistoffe sind durch ihre besondere Reaktionen mit Säure und Lauge direkt identifizierbar.

F= Feststoff, leere Felder = farblos

5.1 Gruppe B I₁₋₂

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
1	Acetylsalicylsäure			
2	Barbital			
3	Benzylpenicillin	farblos (schwach gelblich)	gelblich (F: orange)	
4	Bufexamac	farblos (schwach gelblich)		
5	Captopril		farblos → orange + NO ₂ ↑	
6	Diclofenac	farblos (rosa/hellbraun)	blutrot/blutpink	
7	Ethinylestradiol	blutrot/pink (Konz.abh.)	gelb-orange	farblos → schwach gelb
8	Furosemid	grasgrün (F: dunkelgrün)	grau (F: schwarz)	
9	Glibenclamid	orange	farblos (schwach gelblich)	
10	Hydrochlorothiazid	farblos (schwach gelblich)		
11	Ibuprofen			
12	Indometacin	gelb (F: orange)	gelb → grünlich (1 min)	schwach grünlich (1 min)
13	Paracetamol		orange	
14	Phenobarbital			schwach blaugrün
15	Phenprocoumon			
16	Phenytoin			
17	Salicylsäure			
18	Tolbutamid			

5.2 Gruppe B I₄₋₇

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
20	Dexamethason	farblos (schwach gelblich)		
21	Hydrocortison	gelborange (3 sek)		
22	Leflunomid			
23	Levonorgestrel	grünbraun → braun	farblos → gelblich (1 min)	
24	Menadion	orange-gelb	gelblich	
25	Prednisolon	farblos → rötlich		
26	Spironolacton	gelblich → gelb		
109	Prednisolonacetat	farblos → blutrot		

5.3 Gruppe Bl₃

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
27	Allopurinol			
28	Amitriptylin	intensiv rot (-orange)		
29	Benzocain			
30	Biperiden	rot → rostbraun	farblos → gelblich	
31	Carbamazepin	gelblich		
32	Chloramphenicol	farblos → schwach gelblich		farblos (gelblich)
33	Chlordiazepoxid	farblos (schwach gelblich)	gelblich	
35	Clotrimazol	farblos (schwach gelblich)	farblos → gelblich (5 min)	
36	Coffein			
37	Diphenhydramin	gelb → orange		
38	Flunarizin	schwach gelb (zunehmend)		
39	Levomepromazin	violett → am Rand orange	violett → grün → braun	
40	Levomethadon	farblos (schwach gelblich)		
41	Loperamid			
42	Miconazol			
43	Nicotinamid			
44	Nitrazepam			gelblich (reversibel)
45	Oxazepam	farblos (schwach gelblich)		
46	Papaverin	schwach gelb → blaugrün	gelb	
47	Phenazon			
48	Prazepam			
49	Propyphenazon		schwach gelblich (1min)	
50	Telmisartan			
51	Terfenadin	gelb (F: orange)		
52	Theobromin			
53	Theophyllin			
54	Triamteren	gelb (gelöst)	gelb (gelöst)	
55	Verapamil	orange (-gelb)	gelb	

5.4 Gruppe B II

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
56	Ambroxol		schwach gelblich (1 min)	
57	Atropinsulfat			
58	Bamipin		rot → orange (1 min)	
59	Chinidin	gelblich	bläulich	
60	Chinin	gelblich	bläulich	
61	Chloroquin	gelblich (zunehmend)		
62	Chlorpromazin	pink	pink → gelb	
63	Clonidin			
64	Dextromethorphan	farblos (sprudelnd)	gelb (1 min)	
65	Lidocain			
66	Metoclopramid		gelb	
67	Prazosin	pink → rötlich	orange (1 min)	
68	Procain			
69	Promethazin	pink (grünlich am Rand)	pink → gelb	
70	Propafenon	gelb-grünlich		
71	Propranolol	orange (F: rot)	dunkelviolett → grün → orange	
72	Tetracain		farblos → intensiv gelb	
73	Thiamazol		farblos → grün + NO ₂ ↑	
74	Tramadol	intensiv gelb		
75	Trapidil			
76	Trimethoprim	gelb (-orange) (zunehmend)	blutrot	
77	Xylometazolin			
78	Yohimbin	grau-grünlich	gelbgrün	

5.5 Gruppe B III

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
79	Atenolol			
80	Clioquinol	gelb	gelb → dunkelgrün	
81	Etilefrin	farblos (gelblich)	farblos → gelb (1 min)	
82	Fenoterol	farblos → gelblich	farblos → braunorange (1 min)	farblos → gelblich
83	Metoprolol	farblos → schwach gelb	farblos → hellgelb (1 min)	

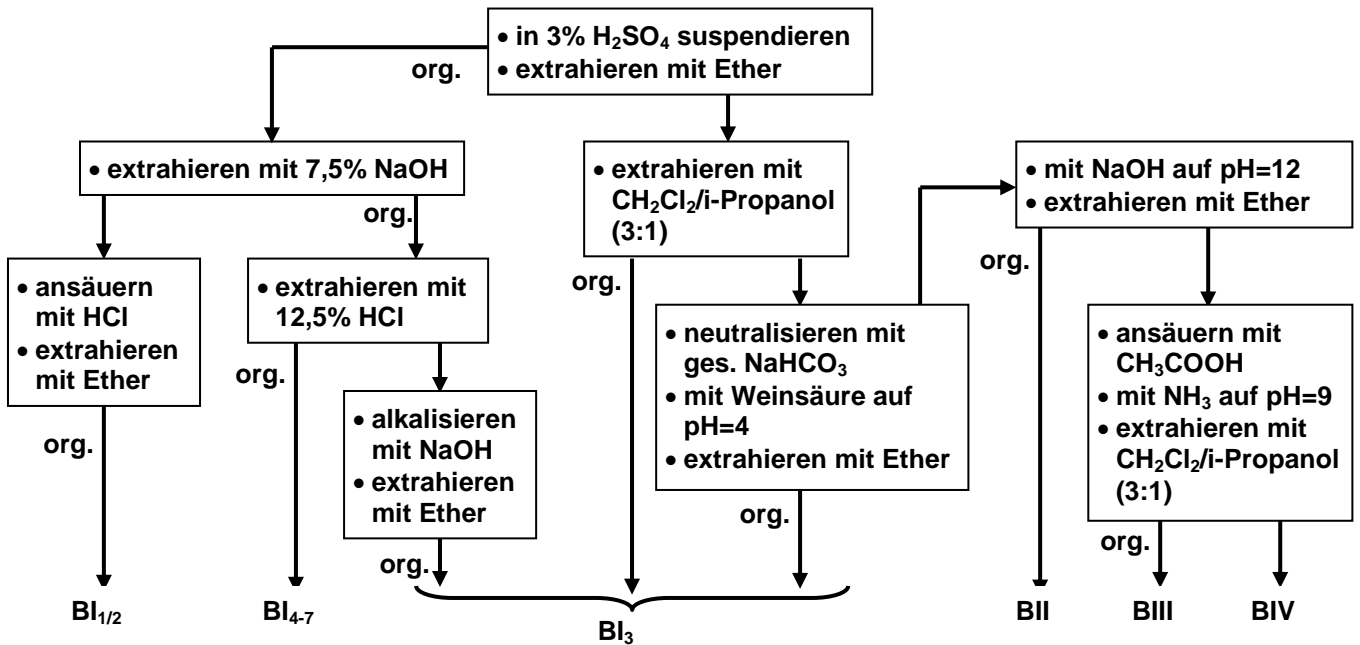
5.6 Gruppe B IV

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
84	Acarbose	farblos (F: gelborange)		farblos (F: hellgelb)
85	Aciclovir			
86	Ampicillin	farblos (F: gelblich)	hellgelb	
87	Ascorbinsäure		gelb	
88	Benserazid	hellorange	rostrot → gelb (5min)	gelb-bräunl. (zunehmend)
89	Cefaclor	farblos (F: orange)	hellgelb (F: gelb)	hellgelb/orange (F: gelb)
90	Cimetidin			
91	Cromoglicinsäure	intensiv gelborange	intensiv gelb	
92	Doxycyclin	intensiv gelb	hellgelb	hellgelb
93	Isoniazid			
94	Levodopa		gelblich bis rostrot	
95	Metamizol	farblos (schwach gelblich)	grünblau → gelblich	
96	Minocyclin	hellgelb → intensiv grünelb	rot	
97	Nikotinsäure			
98	Nystatin	rötlich → schwarz	hellgrau/schwarz	gelblich
99	Pyridoxin	farblos (sprudelnd)		
100	Rutosid	hellgelb/hellgrün	rostrot	intensiv gelb
101	Scopolamin-N-butylbromid		farblos → hellgelb	
102	Sotalol	farblos (schwach gelblich)		
103	Sulfamethoxazol		farblos (schwach gelb)	
104	Sulfasalazin	rotorange/gelb	intensiv orangegelb	intensiv orangegelb
105	Thiamin			gelb
106	Tropiumchlorid	orange → gelb → blaugrün		

5.7 Nicht einordenbare Substanzen

Nr.	Arzneistoffname INN	H ₂ SO ₄	HNO ₃	NaOH
107	Bezafibrat	farblos → schwach gelblich		

6 Stas-Otto-Trennungsgang



6.1 Allgemeine Hinweise

- Allgemein muss man davon ausgehen, dass Stoffe auch in anderen Fraktionen als in der angegebenen erscheinen, wenn sie in hohen Konzentrationen vorliegen. Einige Arzneistoffe zersetzen sich auch in den ausgeschüttelten Fraktionen.
- Auf jeder DC sollte man die gelöste Ursubstanz mitlaufen lassen.
- Durch Übereinandertüpfeln der Probe und der in Verdacht kommenden Referenzsubstanz kann sichergestellt werden, dass es sich wirklich um die vermutete Substanz handelt (ein Fleck => Hinweis, dass es sich um die Referenzsubstanz handelt, zwei Flecken => es handelt sich um unterschiedliche Substanzen).
- Zur sicheren Identifizierung der noch gesuchten Stoffe sollten bereits gefundene Stoffe immer auf die DC mit aufgetragen werden.
- Da sich die Stoffe in ihrem Fließverhalten gegenseitig beeinflussen können, sollten bereits sicher identifizierte Stoffe über die Referenzen aufgetüpfelt werden.
- Bei der Durchführung des Trennungsganges sollte man bedenken, dass einige Arzneistoffe auf der DC bei 254/366 nm nicht oder kaum sichtbar sind.
- Liegt die Analyse in einer Salbengrundlage vor, kann es notwendig sein, den Trennungsgang zu modifizieren oder den Salbentrennungsgang (Auerhoff/Kovar S. 34) zu nutzen.

Im Folgenden sind die Arzneistoffe jeweils entsprechend ihrer Laufhöhe im Gruppenfließmittel angeordnet (größter R_f -Wert oben).

Da Farbempfinden vom Betrachter abhängt sind die Farben als relativ zu betrachten und können durch Verdünnen in die nächst hellere Farbe überführt werden. (rot → rosa)

F = Feststoff
i. = intensiv
n. = nachher
s. = schwach
v. = vorher
z. = zunehmend
(+) = schwach
leere Felder = keine Färbung

6.2 Gruppe B I_{1/2}

- saure Stoffe mit lipophilem Grundgerüst: Carbonsäuren, NH-azide Stoffe, Phenole, Ureide

6.2.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 1

Rf	INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Fluoreszenz nach Mandelin (366 nm)	Vanillin/H ₂ SO ₄
2	Ibuprofen		+		grau	hellblau	violett
3	Diclofenac		+		weinrot		
4	Phenprocoumon		+	blauviolett	orange		violett
5	Tolbutamid		+				violett
6	Indometacin		+	s. hellblau	grau		violett
7	Salicylsäure		+	blauviolett	grau		
8	Acetylsalicylsäure		+		grau-rot	hellblau	
9	Phenytoin		(+)				
10	Glibenclamid		+			blau	
11	Phenobarbital		+				violett
12	Barbital		+				silbergrau
13	Ethinylestradiol		+	blauviolett	rot-braun		schwarz
14	Captopril		(+)		weiß		weiß
15	Bufexamac		+		grau		
16	Furosemid		+	blauviolett	schwarz		graubraun
17	Benzylpenicillin		(+)		weiß		
18	Paracetamol		+		weiß		violett
19	Hydrochlorothiazid		+		s. grau		gelbgrün

Rf	INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs -NH ₃	Gibbs +NH ₃	Marquis
2	Ibuprofen					
3	Diclofenac			hellrosa	hellbraun	grau, v: graurosa
4	Phenprocoumon	s. orange	rosa	hellgelb	hellgrün	grau
5	Tolbutamid		rosa			
6	Indometacin			hellbraun	s. orange	hellgrau
7	Salicylsäure	s. grauorange	ocker	hellbraun	hell	orange
8	Acetylsalicylsäure					orange
9	Phenytoin					
10	Glibenclamid	s. orange				
11	Phenobarbital	s. orange			weißorange	
12	Barbital	s. orange			hellorange	
13	Ethinylestradiol		hellrosa	orange	olivgrün	dunkelviolet
14	Captopril	s. orange	weiß	gelb	gelb-weiß	
15	Bufexamac	s. orange	ocker	hellorange	olivgrün	
16	Furosemid		rosa	hellorange	s. hellbraun	v+n: graubraun
17	Benzylpenicillin		rosa		hellbraun	
18	Paracetamol	s. orange	hellorange	hellbraun	braun	hellorange
19	Hydrochlorothiazid				braun	

- Tolbutamid fluoresziert in der Etherphase gelb. (Nach Trennungsgang und Referenz)

6.2.2 Spezialtrennungen

- Barbiturate in FM 7 trennen

6.2.3 Spezielle Hinweise

- Barbiturate sind in alkalischer Lösung nicht sehr stabil
- Nitrazepam wird häufig neben BI₃ auch in BI₁₋₂ gefunden!
- Wie schon erwähnt, zersetzen sich einige Arzneistoffe in den ausgeschüttelten Fraktionen z.B. ergeben Thiopental und ASS mehrere Flecken.
- Thiopental lässt sich nicht quantitativ ausschütteln. Es ist daher sinnvoll, neben der ausgeschüttelten Fraktion, auch eine Lösung aufzutragen, welche die Gesamtanalyse enthält.
- Fluoreszenzprobe auf Hydrochlorothiazid, Furosemid und Salicylsäure (letztere mit NaOH) aus der Ursubstanz
- ASS zeigt nach Zersetzung Fluoreszenz (→ Salicylsäure), neigt wie Salicylsäure zum Tailing.
- Hydroxamsäurereaktion auf Ester und Säuren
- Phenole: Vorprobe mit FeCl₃ empfehlenswert,
- Phenole: Gibbs Reagenz, Emerson-Reaktion, diazotierte Sulfanilsäure

6.3 Gruppe B I₄₋₇

- unpolare Neutralstoffe, d.h. Verbindungen mit lipophilem Grundgerüst ohne saure oder basische Funktionen

6.3.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 2

Rf	INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Fluoreszenz nach Mandelin (366 nm)	Vanillin/H ₂ SO ₄
1	Menadion	gelb	+		s. gelb		
2	Leflunomid		+				s. lila
3	Spironolacton		+		braun-rot	gelb	orange
4	Levonorgestrel		+		olivgrün	rot	braun
5	Prednisolonacetat		+		s. orange		
6	Dexamethason		+		weiß		
7	Hydrocortison		+		fast weiß	hellgelb	
8	Prednisolon		+		grau-braun		

Rf	INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs -NH ₃	Gibbs +NH ₃	Marquis
1	Menadion	s. orange	s. hellbraun	hellgelb	hellbraun	braun
2	Leflunomid					
3	Spironolacton	orange			hellbraun	gelbgrün
4	Levonorgestrel	s. orange			hellbraun	graubraun
5	Prednisolonacetat					braun
6	Dexamethason	orange	pink		hellbraun	braun
7	Hydrocortison		s. rosa			ocker
8	Prednisolon	s. orange	pink		hellbraun	dunkelbraun

- Menadion läuft in allen FM sehr hoch, und färbt sich in FM BI₃ und BII auf der Platte blau

6.3.2 Spezialtrennungen

- Hydrocortison, Dexamethason und Prednisolon bleiben in FM 2 am Start, lassen sich jedoch in FM 8 gut trennen

6.4 Gruppe B I₃

- schwach basische Verbindungen mit lipophilem Grundgerüst

6.4.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 3

Rf	INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Fluoreszenz nach Mandelin (366 nm)	Vanillin/H ₂ SO ₄
1	Biperiden		((+))		schwarz		s. violett
2	Flunarizin		+	s. gelb	grau-weiß		
3	Levomethadon		+	s. violett	grau		gelb
4	Levomepromazin	s. violett	+	s. violett	lila		blau
5	Amitriptylin		+		blau	blau	
6	Verapamil		+		grau		
7	Propyphenazon		+		weiß		s. gelb
8	Diphenhydramin		(+)		bräunlich		s. weiß
9	Prazepam		+	s. blau			s. gelb
10	Clotrimazol		+		braunorange		
11	Miconazol		(+)				
12	Papaverin		+	gelb	grau		blau
13	Loperamid		(+)		weiß		
14	Terfenadin		+		grauweiß		s. gelb
15	Carbamazepin		+	s. violett	grün		s. violett
16	Phenazon		+	s. blau	weiß		gelb
17	Coffein		+				
18	Theobromin		(+)	s. violett	rosa		
19	Oxazepam		+	s. blau			
20	Nitrazepam	s. gelb	+		grau-braun		
21	Chlordiazepoxid		+	s. gelb			
22	Nicotinamid		+				s. gelb
23	Chloramphenicol		+		orange		
24	Allopurinol		+				
25	Theophyllin		+				
26	Triamteren	gelb	+	violett	gelb	blau	gelb
27	Telmisartan		+	violett	s. grau		
28	Benzocain		+		hellviolett		gelb

Rf	INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs -NH ₃	Gibbs +NH ₃	Marquis
1	Biperiden	orange				grau, v: türkis
2	Flunarizin	orange	s. rosa			s. gelb
3	Levomethadon	orange			hellgelb	
4	Levomepromazin	orange		grau	hell	blau, v: lila
5	Amitryptilin	orange		s. hellgelb	s. hellorange	orangebraun
6	Verapamil	orange		orange	s. olivgrün	grau
7	Propyphenazon	orange			hellgrau	s. hellrot
8	Diphenhydramin	orange	s. rosa		s. hell	s. ocker
9	Prazepam	orange	s. gelb		hellgrau	hellorange
10	Clotrimazol	orange			hell	gelb
11	Miconazol	orange				
12	Papaverin	orange		orange	hellgrau	graurot
13	Loperamid	orange			s. hellgelb	
14	Terfenadin	orange	s. grau	braun	olivgrün	braunrot
15	Carbamazepin	orange		hellgelb	s. hellorange	
16	Phenazon	orange		s. hellorange	hellgrau	
17	Coffein			s. hellgelb		
18	Theobromin		s. orange			orange
19	Oxazepam	orange			hellgrau	s. gelb
20	Nitrazepam	orange	hellgelb		hellgrau	hellgelb
21	Chlordiazepoxid	s. orange				
22	Nicotinamid	s. orange			dunkel	
23	Chloramphenicol		s. rosa		s. dunkelbraun	
24	Allopurinol					
25	Theophyllin				lila	s. ocker
26	Triamteren	orange	s. gelb	gelb	gelb	gelb
27	Telmisartan	orange		hellorange		
28	Benzocain	s. orange	pink	hellbraun	braun	

6.4.2 Spezialtrennungen

- In FM 3 bleiben die Substanzen unterhalb von Chlordiazepoxid am Start. Es eignet sich Fließmittel 4.
- Trennung von Oxazepam, Nitrazepam und Chlordiazepoxid:
 - Unterscheidung von Chlordiazepoxid/Oxazepam bzw. Chlordiazepoxid/Nitrazepam in FM 9
 - Unterscheidung von Nitrazepam/Chlordiazepoxid bzw. Nitrazepam/Oxazepam in FM10

6.4.3 Spezielle Hinweise

- 1,4-Benzodiazepine sind in saurer Lösung nicht sehr stabil
- Nitrazepam wird in basischer Lösung gelb (reversibel)
- Nitrazepam wird häufig auch noch in BI₁₋₂ gefunden

6.5 Gruppe B II

- stark basische Verbindungen mit lipophilem Grundgerüst

6.5.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 4

Rf	INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Fluoreszenz nach Mandelin (366 nm)	Vanillin/H ₂ SO ₄
1	Propafenon		+		gelb		s. lila
2	Lidocain		(+)		s. grau		s. weiß
3	Tramadol		+		grau	violett	
4	Promethazin		+	s. violett	dunkelpink		braun
5	Chlorpromazin	s. violett	+	s. blau	dunkelpink		s. lila
6	Bamipin		+		orange → pink		s. gelb
7	Tetracain		+		s. grau	gelb	s. gelb
8	Procain		+	s. violett	grau-braun		gelb
9	Yohimbin		+		rot-grün	hellblau	s. grau
10	Chloroquin		+	s. blau			
11	Dextromethorphan		(+)		grau		s. weiß
12	Trapidil		+				
13	Clonidin		+				s. weiß
14	Ambroxol		+		orange		s. gelb
15	Metoclopramid		+	s. violett	rot-braun	violett	gelb
16	Prazosin		+	s. violett	orange-rosa		s. hellblau
17	Atropinsulfat		+		s. grau		s. hellblau
18	Xylometazolin		+		weiß		s. weiß
19	Propranolol		+		türkisgrau	violett	s. lila
20	Chinidin		+	blau			s. hellblau
21	Thiamazol		+		weiß		weiß
22	Chinin		+	blau			s. hellblau
23	Trimethoprim		+		braungrau		

Rf	INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs -NH ₃	Gibbs +NH ₃	Marquis
1	Propafenon	orange	rotbraun	s. gelb	orange	ocker
2	Lidocain	orange				
3	Tramadol	orange				blauschwarz
4	Promethazin	orange	rotbraun	grau	lila	lila, v: rosa
5	Chlorpromazin	orange		grau	s. braun	pink
6	Bamipin	orange	s. ocker	blaugrau	braun	
7	Tetracain	orange	s. hellbraun	lila	braun	
8	Procain	orange	pink	rotbraun	s. braun	
9	Yohimbin	s. orange	s. braun	s. braun		grau
10	Chloroquin	orange				farblos, v: pink
11	Dextromethorphan	orange		s. ocker		grau
12	Trapidil	orange		s. orange	hellbraun	
13	Clonidin	orange			s. gelb	
14	Ambroxol	orange	hellbraun	hellbraun	braun	s. hellrosa
15	Metoclopramid	orange	rosa	rotbraun	s. grau	
16	Prazosin	s. orange			weiß	
17	Atropinsulfat	orange		s. gelb	gelb	
18	Xylometazolin	orange		s. gelb	blaugrün	
19	Propranolol	orange	hellbraun	rosa	orange	grau-blau
20	Chinidin	orange	s. graublau	s. gelb		
21	Thiamazol	orange	rosa	braunorange	orange	
22	Chinin	orange	s. graublau	s. gelb		
23	Trimethoprim	orange		s. orange		

6.5.2 Spezielle Hinweise

- Löslichkeit:
 - Die Substanzen sind mit Ausnahme von Chloroquin in organischen Lösungsmitteln gut löslich. Chloroquin löst sich in Wasser.
 - Allerdings hat es sich bewährt, eine basische Ausschüttelung zu verwenden, da einige Substanzen als Hydrochloride ausgegeben werden. Hierzu schüttelt man die Basen aus ca. 1,5 N NaOH in Ether oder Methylenchlorid aus.
- UV-unsichtbare und schlecht sichtbare Stoffe:
 - Schlecht sichtbar: Atropin (sehr viel auftragen!)
 - Schlecht sichtbar: Xylometazolin
- Propafenon kann während des Laufs verschwinden. Der nach dem Auftragen sichtbare Fleck ist bei der Auswertung nicht mehr auffindbar.

6.6 Gruppe B III

- Verbindungen mit sauren und basischen Gruppen und lipophiler Struktur, d.h. amphotere Stoffe (Phenolbasen)

6.6.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 5

Rf	INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Fluoreszenz nach Mandelin (366 nm)	Vanillin/H ₂ SO ₄
1	Clioquinol	gelbgrün	+	gelb	blau-grau		gelbgrün
2	Metoprolol		+		lila	hellblau	
3	Fenoterol		+		grau-violett		ocker
4	Atenolol		+		weiß		weiß
5	Etilefrin		+		orange	violett	

Rf	INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs - NH ₃	Gibbs + NH ₃	Marquis
1	Clioquinol	graugrün	olivgrün	grünlich	grünblau	gelb, v: gelb
2	Metoprolol	orange	s. rosa		s. weiß	
3	Fenoterol	s. orange	s. rosa	ocker	braun	braunorange, v: ocker
4	Atenolol	orange	hellbraun	s. hellbraun	hellbraun	
5	Etilefrin	s. orange	pink		intensiv blau	rosa

6.6.2 Spezielle Hinweise

- Die Substanzen der Gruppe können stets bei pH 9 in die organische Phase überführt werden. Zur besseren Identifizierung der Stoffe ist es sinnvoll, zusätzlich eine basische Ausschüttelung herzustellen und aufzutragen.
- Clioquinol ist braunorange und gibt schon ohne Besprühen auf der Platte einen gelben Fleck, der besonders nach dickem Auftragen zum Tailing neigt.

6.7 Gruppe B IV

- alle hydrophilen Stoffe
- sehr heterogene Gruppe u.a. mit Aminosäuren, Zuckern, Tetracyclinen, Hydroxycarbonsäuren und Arzneistoffen mit permanenter Ladung

6.7.1 Gruppen-DC und Detektionsmöglichkeiten – FM 6

Rf	INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Fluoreszenz nach Mandelin (366 nm)	Vanillin/H ₂ SO ₄
1	Levodopa	grau	+		grau		
2	Sulfamethoxazol		+		grau-violett		gelb
3	Sulfasalazin	gelborange	+		gelb		orange
4	Rutosid	gelb	+		gelb		gelborange
5	Ascorbinsäure	grau	+		weiß		
6	Nystatin	gelblich	+	s. hellblau	dunkelbraun		braunschwarz
7	Nikotinsäure		+				s. weiß
8	Sotalol		+		grau	blaugrün	
9	Metamizol		+		weiß		s. gelb
10	Pyridoxin		+	violett	blaugrau		
11	Ampicillin		+	s. hellblau			gelb
12	Cefaclor	gelb	+	blau			
13	Isoniazid		+		rosa		gelb
14	Aciclovir		+	s. blau			gelb
15	Cimetidin		(+)		weiß		
16	Scopolamin		(+)				s. weiß
17	Cromoglicinsäure		+	s. hellblau	gelb		
18	Doxycyclin	gelb	+	gelb	orange		
19	Benserazid	grau	+		orangebraun		
20	Trospiumchlorid		+		rotbraun		
21	Acarbose		(+)	s. violett			
22	Thiamin		+				
23	Minocyclin	gelb	+		rotbraun		s. gelb

Rf	INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs -NH ₃	Gibbs +NH ₃	Marquis
1	Levodopa	grünweiß	lila	braunorange	grauschwarz	graugrün, v: grau
2	Sulfamethoxazol	s. orange	pink	hellbraun	s. braun	
3	Sulfasalazin	braun	gelb	gelb	s. hellgelb	v+n: gelb
4	Rutosid	gräulich	hellgrün	grüngelb	graugrün	gelbbraun, v: gelb
5	Ascorbinsäure		rosa	hellbraun	weiß	hellbraun
6	Nystatin	s. orange	rosa	hellbraun	s. hellgelb	v+n: graubraun
7	Nikotinsäure					
8	Sotalol	orange	rosa			
9	Metamizol	s. orange	pink	hellbraun	braun	
10	Pyridoxin			blau	intensiv lila	
11	Ampicillin	grünweiß	rotorange	blau	hellgelb	
12	Cefaclor	grünweiß	braunrot	hellbraun	s. orange	hellgelb
13	Isoniazid	orange	gelb	rotbraun	rotbraun	
14	Aciclovir	grünweiß			weiß	
15	Cimetidin	orange		hellbraun	gelb	
16	Scopolamin	orange				
17	Cromoglicinsäure	orange			s. hellblau	v+n: gelb
18	Doxycyclin	orange	ocker	gelbgrün	gelb	v+n: hellbraun
19	Benserazid	grün	braunorange	braunorange	orange	braun, v: ocker
20	Tropiumchlorid	orange			hellgelb	
21	Acarbose	grünweiß	lila			hellbraun
22	Thiamin	orange			orange	
23	Minocyclin	orange	orangebraun	grünbraun	schwarz	v+n: ocker

6.7.2 Spezielle Hinweise

- Metamizol zersetzt sich in saurer Lösung relativ leicht
- Tetracycline zeigen eine Fluoreszenz bei 366 nm.
- spezifische Färbung mit konz. Schwefelsäure: Doxycyclin wird gelb-orange
- Acarbose lässt sich durch Föhnen der DC mit dem Heißluftfön anfärben (Verkohlung, tritt bei vielen anderen Arzneistoffen ebenfalls auf)

6.8 Nicht einordenbare Substanzen – Bezafibrat

INN	VIS	254 nm	366 nm	Mandelins	Flz. nach Mandelin	Vanillin/H ₂ SO ₄
Bezafibrat		+		weiß		s. lila

INN	Dragendorff	Ninhydrin	Gibbs -NH ₃	Gibbs +NH ₃	Marquis
Bezafibrat	s. orange			hell	

Bezafibrat zersetzt sich in 3% H₂SO₄ und lässt sich deshalb nicht in den Trennungsgang einordnen.

Anhang

Verantwortlichkeitsbereiche

PR-Leitung:	Professor Dr. D. Steinhilber	N250, Raum 3.06
Semesterleitung:	Dr. Eugen Proschak proschak@bioinformatik.uni-frankfurt.de	N240, Raum 3.03b Tel. 29301
Assistenten:	Dr. Thea Wöbke	N250, Labor 3.27 Tel. 29349
	Saskia Busch	3.28 29350
	Ann-Kathrin Ball	3.23 39344
	Steffen Hahn	3.25 29291
	Sandra Wittmann	N250, Labor 2.07 29312
	Isabelle Maucher	N210, Labor 3.18 29291
Technikerin:	Angelika Tintschl-Körbitzer	N250, Labor 3.10 Tel. 29345

Laboröffnungszeiten: Mo, Mi, Do 12 - 17:45 Uhr
Di 13:00 - 17:45 Uhr
Fr 9:00 - 14:45 Uhr

Chemikalienausgabe: Dr. Gerhard Jähne, N100, Raum 007; Tel: 29356
Mo-Do 10:00 - 15:00
Fr 10:00 – 14:30

Entsorgung von Feststoff- und neutralisieren Flüssigabfällen:

Zentrales Zwischenlager, Mi 13:30 - 14:30 Uhr
Fr 10:00 - 12:00 Uhr

Ansprechpartner: Herr W. Lohbeck; Tel: 29392 oder 22786

Saaldienst

Aufgaben des Saaldienstes:

- ✓ Entsorgung der Abfallkanister und der Feststofftonne
- ✓ Allgemeinen Bedarf an Lösungsmitteln aus der Chemikalienausgabe besorgen

Übergabe des Labors an den Assistenten zum Praktikumsende:

- ✓ Kontrolle aller Abzüge (sauber zu hinterlassen)
- ✓ Computer und Geräte ausschalten, ggf. Netzstecker ziehen
- ✓ Wasserhähne (zugedreht)
- ✓ Fenster (geschlossen)
- ✓ Entsorgung unbeschrifteter Gefäße und der Fließmittel
- ✓ Chemikalien/Lösungsmittel in die Schränke
- ✓ Referenzen einsortieren