

1 Einführung

In der chemischen Analytik ist es häufig erforderlich, Stoffgemische aufzutrennen und einzelne Bestandteile zu identifizieren oder zu isolieren oder die Identität einer Substanz mit einer Vergleichssubstanz zu bestätigen.

Die **Dünnenschichtchromatografie** zählt nach wie vor zu den gängigen und auch leistungsfähigen Methoden.

Der Begriff Chromatografie ist aus den griechischen Begriffen $\chiρωμα$ = chroma für „Farbe“ und $\gammaραφειν$ = graphein für „schreiben“ gebildet worden. Diese Wortfindung könnte auf die ersten Versuche zurückgehen, pflanzliche Blattextrakte auf Papier mit einem Lösungsmittel in die verschiedenen Farben der Chlorophylle und Xanthophylle aufzutrennen.

Zunächst entwickelten sich die chromatografischen Trennungen auf Papier (Cellulose) aufgrund empirischer Erfahrungen und Ergebnisse. Später erfolgte eine Übertragung auf Kieselgel(platten) und anschließend die zwingend erforderlichen Überlegungen zur Theorie der ablaufenden Trennvorgänge.

Je nach anfallendem Trennproblem wurden die weiteren chromatografischen Methoden nach Trennvorgang und Aggregatzustand der Phasen entwickelt: Säulenchromatografie mit ihrer Hochleistungsvariante HPLC (High Performance Liquid Chromatography) und Gaschromatografie (GC), wenn eine Phase gasförmig ist. GC und HPLC stellen Systeme mit einem „geschlossenen“ chromatografischen Bett dar, bei denen der Fluss der mobilen Phase über eine Pumpe gesteuert wird.

Die Dünnenschichtchromatografie stellt hingegen ein System mit einem „offenen“ chromatografischen Bett dar, bei dem das Fließverhalten der mobilen Phase durch zahlreiche Faktoren beeinflusst wird.

Nach Kenntnis der Einflussfaktoren ist die Dünnenschichtchromatografie zu einer HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography) weiterentwickelt worden. Die HPTLC erfordert - analog zu den beiden technischen Methoden (HPLC und GC) - einen größeren apparativen Aufwand sowohl für die Entwicklung als auch für die Detektion.

Dennoch ist die Dünnenschichtchromatografie die einzige Methode, die mit geringem apparativem Aufwand gute und auch reproduzierbare Ergebnisse liefern kann.

Definition: Als Chromatografie bezeichnet man ein physikalisches Trennverfahren für Stoffe, bei dem die Trennung auf der unterschiedlichen Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase, die nicht miteinander mischbar sind, beruht.

Das **dünnenschichtchromatografische System** besteht aus einer Trägerplatte (z. B. aus Glas oder Aluminiumfolie), auf der sich eine dünne Schicht eines Sorptionsmittels (z. B. Kieselgel) als ruhende, stationäre Phase befindet, über die sich die mobile Phase bewegt.

2 Theoretische Grundlagen

Die physikalisch-chemischen Vorgänge des chromatografischen Trennverfahrens beruhen auf zwei Prinzipien, der **Adsorption** auf der stationären Phase (► Kap. 2.1 Adsorptionschromatografie) und der **Verteilung** in der beweglichen Phase (► Kap. 2.2 Verteilungschromatografie).

2.1 Adsorptionschromatografie

Bei der Adsorption lagert sich die in der mobilen Phase gelöste zu trennende Substanz an der Oberfläche der festen, stationären Phase an, wofür zum einen physikalische Kräfte (Van-der-Waals-Kräfte) verantwortlich sind, zum anderen führen Wasserstoff-Brückenbindungen zur chemischen Adsorption (Langmuir). Die Bindung ist reversibel.

Voraussetzung für eine chromatografische Trennung ist, dass die Vorgänge umkehrbar sind.

2.2 Verteilungschromatografie

Dieses Verfahren basiert auf dem Nernst'schen Verteilungssatz, der die Verteilung einer Substanz zwischen zwei begrenzt miteinander mischbaren Phasen beschreibt. Die Verteilung geschieht in einem reproduzierbaren, für die Substanz charakteristischen Verhältnis, das mit dem Verteilungskoeffizienten α beschrieben wird.

Es gilt für diese Stoffkonstante:

$$\alpha = \text{cm}/\text{cs}$$

Wobei cm und cs die Konzentrationen der Substanz in der mobilen und in der stationären Phase angeben.

3 Chromatografische Trennprozesse

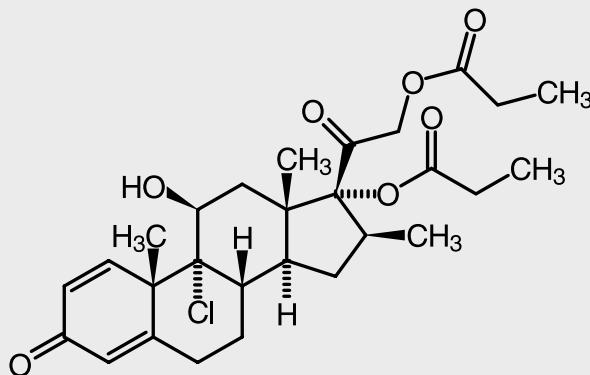
Als wichtiges Kriterium im chromatografischen Prozess wird der Fluss der mobilen Phase durch und über die Sorbentspartikel der stationären Phase gesehen.

Der Fluss der mobilen Phase wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Zwischen den Sorbentspartikeln entstehen durch die Schichtung auf der Platte enge Kanäle, die sich wie Kapillaren verhalten. Das Fließmittel bewegt sich aufgrund des entstehenden Kapillardrucks, der durch die Wechselwirkung zwischen der Oberflächenspannung der Flüssigkeit (Kohäsion) und der Grenzflächenspannung zwischen der Flüssigkeit und der festen Oberfläche (Adhäsion) hervorgerufen wird, über die Schicht.

Die Fließgeschwindigkeit lässt sich mit der Berechnung des Kapillardrucks allein nicht erfassen, da die Abstände zwischen den einzelnen Sorbentspartikeln aufgrund ihrer unterschiedlichen Korngröße nicht gleich sind und die Poren im Sorbentsmaterial, in die das Fließmittel hineingelangt und unterschiedlich schnell wieder herauskommt, ebenfalls keinen einheitlichen Durchmesser aufweisen. Für die im Fließmittel gelösten Substanzen gilt das entsprechend: ihre chemische und physikalische Beschaffenheit entscheidet über die Geschwindigkeit, mit der sie die Poren des Sorbents durchwandern und dem Fließmittel folgen.

Beclometason-17,21-dipropionat

Beclometasoni dipropionas



$C_{28}H_{37}ClO_7$
 M_r 521,05
Smp. ca. 210 °C (unter Zersetzung)

CAS Nr. 50-81-7
Ph. Eur. 11.0/0654



GHS08
Gefahr

Nomenklatur/Synonyme

(Wasserfreies) Beclometason-dipropionate, 9-Chlor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17,21-diyldipropionate

Eigenschaften

Weißes bis fast weißes, kristallines Pulver, praktisch unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aceton, wenig löslich in Ethanol 96 %

Verwendung

Beclometason-17,21-dipropionate zählt zu den Glucocorticoiden mit pulmonaler Applikation zur Behandlung von Asthma und COPD (chronisch obstruktive Lungenerkrankung) oder als Nasenspray zur Behandlung allergischer Rhinitis; es wirkt entzündungshemmend, immun-suppressiv und antiallergisch, es reduziert die Schleimbildung, fördert den Transport des gebildeten Schleimes aus den Atemwegen und hemmt die Wassereinlagerung in das Gewebe der Bronchien.

Pharmakodynamik und/oder -kinetik

Beclometason-17,21-dipropionate wird im Lungengewebe schnell in die eigentliche Wirkform, das Beclometason-17-propionate, überführt, die weitere Metabolisierung führt zum schwächer wirksamen Beclometason.

Arbeitsvorschrift

Sorptionsschicht

Kieselgel 60 F₂₅₄

Fließmittel

Ethylmethylketon, Toluol (40:60 V/V); ohne Kammersättigung

Untersuchungslösung

5 mg Beclometason-17,21-dipropionate in 3 ml Methanol (evtl. unter Zugabe einiger Tropfen Aceton)

Referenzlösung

Je 5 mg authentisches Beclometason-17,21-dipropionate (aus Bestand) und Desoxycortonacetat in 3 ml Methanol (evtl. unter Zugabe einiger Tropfen Aceton)

Auftragevolumen

Je 5 μ l auf 10 mm

Laufstrecke/Laufzeit

10–15 cm in 55 min

Detektion

1. UV₂₅₄
2. Ethanolische Schwefelsäure [20 % (V)] als Sprühreaktionszone
3. Erhitzen auf 110 °C für 5 min
4. UV₃₆₅

Hinweise zur Auswertung

Die Untersuchungslösung darf nur eine Zone mit gleichem R_f -Wert und gleicher Färbung wie authentisches Beclometason-17,21-dipropionate (aus Bestand) ergeben. Die Zone der Vergleichssubstanz Desoxycortonacetat muss deutlich höher liegen. Nach Besprühen mit ethanolischer Schwefelsäure und Erhitzen erscheint unter UV₃₆₅ Beclometason-17,21-dipropionate grauviolett, während Desoxycortonacetat leuchtend orange fluoresziert (Abb. 2). Im Tageslicht ist dann die Zone von Beclometason-dipropionate blau, die von Desoxycortonacetat rotviolett (Abb. 3).

DC-Abbildungen

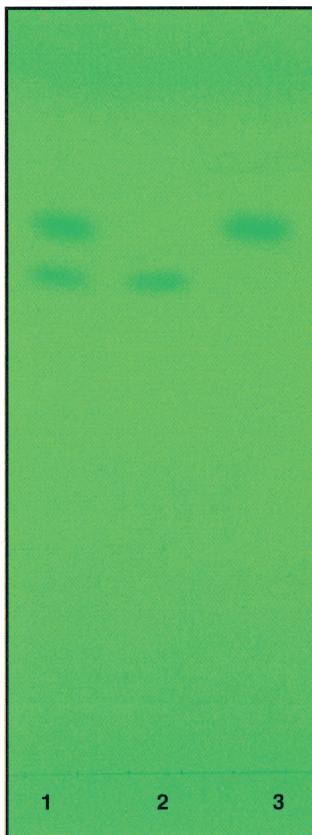


Abb. 1: DC von **Beclometason-17,21-dipropionat** auf einer Kieselgelplatte; Betrachtung unter UV_{254}

Bahn 1: Beclometason-17,21-dipropionat und Desoxycortonacetat
Bahn 2: **Beclometason-17,21-dipropionat** (R_f ca. 0,63)
Bahn 3: Desoxycortonacetat (R_f ca. 0,70)

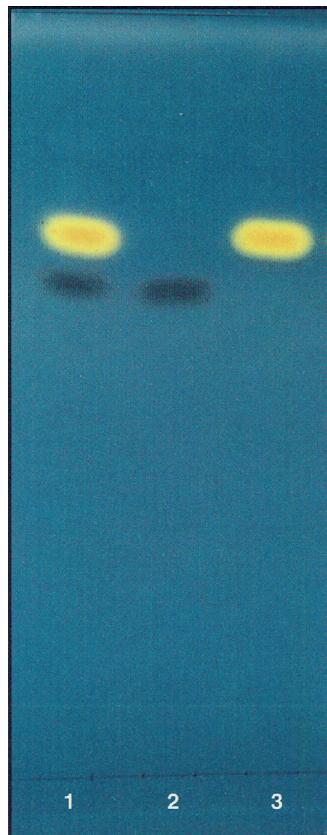


Abb. 2: DC von **Beclometason-17,21-dipropionat** auf einer Kieselgelplatte; Betrachtung nach Besprühen mit ethanolischer Schwefelsäure und Erhitzen unter UV_{365}

Bahn 1: Beclometason-17,21-dipropionat und Desoxycortonacetat
Bahn 2: **Beclometason-17,21-dipropionat** (R_f ca. 0,63)
Bahn 3: Desoxycortonacetat (R_f ca. 0,70)

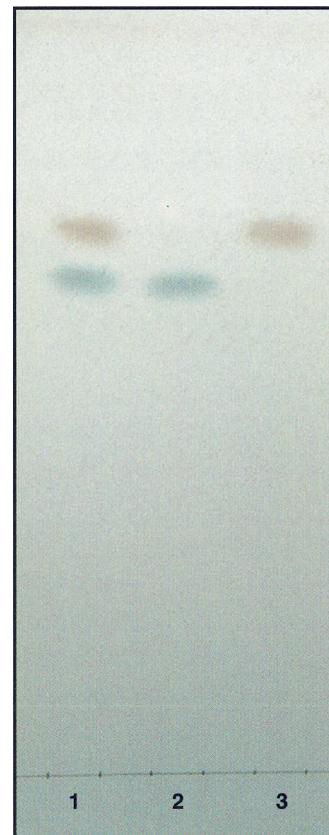


Abb. 3: DC von **Beclometason-17,21-dipropionat** auf einer Kieselgelplatte; Betrachtung nach Besprühen mit ethanolischer Schwefelsäure und Erhitzen im Tageslicht

Bahn 1: Beclometason-17,21-dipropionat und Desoxycortonacetat
Bahn 2: **Beclometason-17,21-dipropionat** (R_f ca. 0,63)
Bahn 3: Desoxycortonacetat (R_f ca. 0,70)

Cannabissamen/Hanfsamen

Cannabissamenöl/Hanfsamenöl

Fructus (Semen) cannabis

Oleum cannabis

Stammpflanze

Cannabis sativa L.

Inhaltsstoffe (Hauptbestandteile)

Fettes Öl

C

Nomenklatur/Synonyme

Hanffrüchte, Hanfkörner; Hemp seed; Chènevis, Graine de chanvre, Semence de chanvre; Canamon

Eigenschaften

Die reifen Früchte (Achänen, einsamige nussähnliche Schließfrüchte) sind breit-eiförmig, leicht abgeflacht, glatt und graugrün. Der Geschmack ist süß-ölig.

Verwendung

Durch den hohen Gehalt an ungesättigten Omega-3-Fettsäuren und Aminosäuren werden die Samen als „Superfood“ ausgelobt, das fette Öl wird äußerlich zur Hautpflege verwendet.

Innerlich wird das Samenöl als Nahrungsergänzungsmittel aufgrund des Cannabidiolgehalts zur Beruhigung, Entspannung und Schlafverbesserung angewendet. Beispiele für die frühere, überwiegend äußerliche therapeutische Anwendung der Samen oder ihres Öls sind die Verwendung bei Gicht, Rheuma, als Expectorans bei Bronchitis, bei Leiden der Urogenitalorgane und des Magen-Darm-Traktes sowie bei Gallebeschwerden.

Pharmakodynamik und/oder -kinetik

Wissenschaftliche Nachweise zur Wirksamkeit fehlen, eine (bewerbende) Aussage zur Gesundheitswirkung ist nicht zugelassen.

Hinweis

Cannabissamen und -samenöle, deren Tetrahydrocannabinol-Gehalt unter 2% liegt und die als Lebensmittel in Verkehr gebracht werden, unterliegen nicht dem Betäubungsmittelgesetz.

Fließmittel

- I. Aceton, Essigsäure 99 %, Dichlormethan (50:40:20 V/V/V) (Fette); ohne Kammersättigung
- II. Toluol, Ethylacetat (90:10 V/V) (Sterine); ohne Kammersättigung

Untersuchungslösung

Cannabissamen-Dichlormethanextrakt; Cannabissamen-Methanolextrakt; 20 µl Cannabissamenöle des Handels in 4 ml Dichlormethan

Dichlormethanextrakt: 5 g gemahlene Samen in 5 ml Dichlormethan 30 min unter Wärmeanwendung auf dem Magnetrührer extrahieren, nach dem Abkühlen filtrieren, auf 5 ml auffüllen.

Methanolextrakt: 1 g gemahlene Samen mit 5 ml Methanol unter leichter Wärmeanwendung extrahieren, filtrieren und auf 5 ml einstellen.

Referenzlösung

20 µl Nachtkerzenöl in 4 ml Dichlormethan; 2 mg Cannabidiol (CBD) in 2 ml Methanol; ca. 2 mg (1 Tropfen) Dronabinol (THC) in 2 ml Methanol; je 1 mg Sitosterin (Desmethylsterin) und Lupeol in je 2,5 ml Methanol.

Bockshornsamen-Dichlormethanextrakt: 1 g pulverisierte Droge mit 20 ml Dichlormethan ca. 5 min auf dem Wasserbad (65 °C) erwärmen, nach dem Erkalten abfiltrieren, auf 20 ml ergänzen.

Bockshornsamen-Methanolextrakt: 1 g pulverisierte Droge in 5 ml Methanol ca. 5 min auf dem Wasserbad (65 °C) erwärmen, nach dem Erkalten abfiltrieren (ergibt 4 ml).

Sesamsamen-Methanolextrakt: 1 g fein gemahlene Samen mit 5 ml Methanol bei 65 °C auf dem Wasserbad erwärmen, nach dem Erkalten zentrifugieren oder filtrieren und mit Methanol auf 5 ml auffüllen.

Auftragevolumen

3 µl auf 8–10 mm oder 1–4 µl auf 6 mm

Laufstrecke/Laufzeit

- I. 6 cm in 15–17 min
- II. 4 cm in 5 min

Detektion

1. Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz
2. Molybdatophosphorsäure-Reagenz
3. Erhitzen auf ca. 100 °C

Arbeitsvorschrift

Sorptionsschicht

HPTLC Kieselgel 60 F₂₅₄

HPTLC Kieselgel 60 RP-18 WF₂₅₄

Vorbehandlung

Platten vor Gebrauch in einem Gemisch aus Methanol und Dichlormethan reinigen („entwickeln“) und bei 100 °C trocknen

Hinweise zur Auswertung

Nachtkerzenöl gilt als Öl mit einem großen Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die zusätzlichen Banden der Cannabissamenöle können auch von anderen ungesättigten Inhaltsstoffen oder Zusatzstoffen herrühren (Abb. 1).

DC-Abbildungen

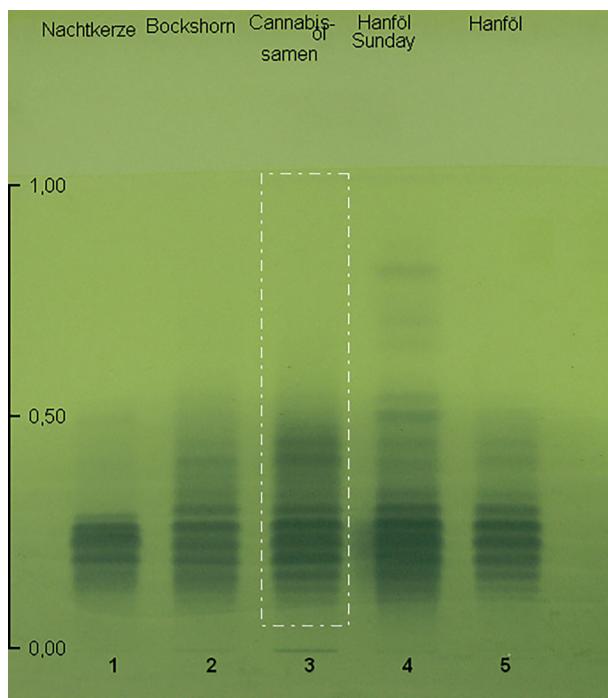


Abb. 1: DC von **Cannabissamen-Dichlormethanextrakt** auf einer HPTLC RP-18-Platte von 10x10 cm im **Fließmittel** (Fette); Betrachtung nach Detektion mit dem Molybdato-phosporsäure-Reagenz im Tageslicht

Bahn 1: Nachtkerzenöl 3 µl auf 8 mm

Bahn 2: Bockshornsamen-Dichlormethanextrakt 3 µl auf 8 mm

Bahn 3: **Cannabissamen-Dichlormethanextrakt** 3 µl auf 8 mm

Bahn 4: **Cannabissamenöl I** (Firma Sunday) 3 µl auf 8 mm

Bahn 5: **Cannabissamenöl II** (Firma Taoasis) 3 µl auf 8 mm

THC und CBD lassen sich in den Cannabissamenölen nicht nachweisen (Abb. 2). Dazu wurde die 2. Hälfte der DC-Platte mit dem Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz detektiert, um die Cannabinoide zu markieren.

Im Methanolextrakt der Cannabissamen lassen sich zwei Sterine nachweisen, wobei das eine als Sitosterin identifiziert werden kann (Abb. 3).

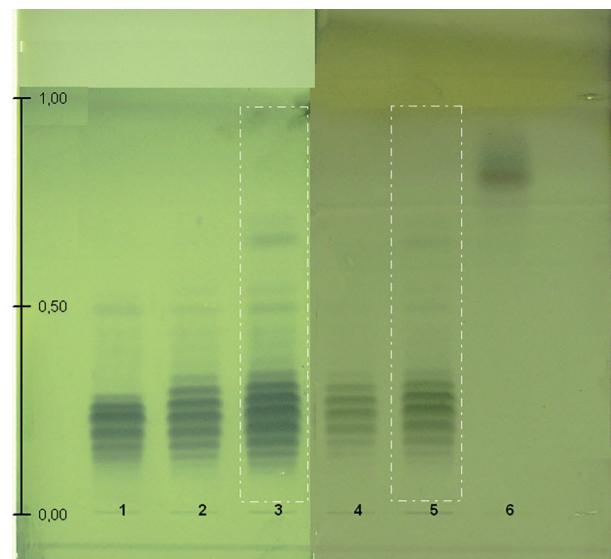


Abb. 2: DC von **Cannabissamenölen** auf einer HPTLC-RP-18-Platte von 10x10 cm im **Fließmittel** (Fette); Betrachtung nach Detektion der Bahnen 1–3 mit dem Molybdato-phosporsäure-Reagenz und der Bahnen 4–6 mit dem Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz im Tageslicht

Bahn 1: Nachtkerzenöl 3 µl

Bahn 2 und 4: **Cannabissamenöl II** (Firma Taoasis) je 3 µl

Bahn 3 und 5: **Cannabissamen-Dichlormethanextrakt** aus Samen je 3 µl

Bahn 6: THC und CBD je 3 µl

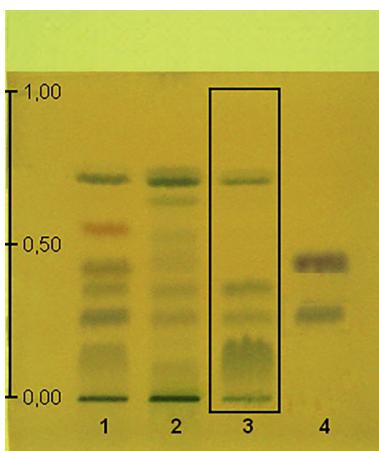


Abb. 3: DC von **Cannabissamen-Methanolextrakt** auf einer HPTLC-Kieselgelplatte von 5x5 cm **im Fließmittel II** (Sterine); Betrachtung nach Detektion mit dem Anisaldehyd-Schwe-felsäure-Reagenz im Tageslicht

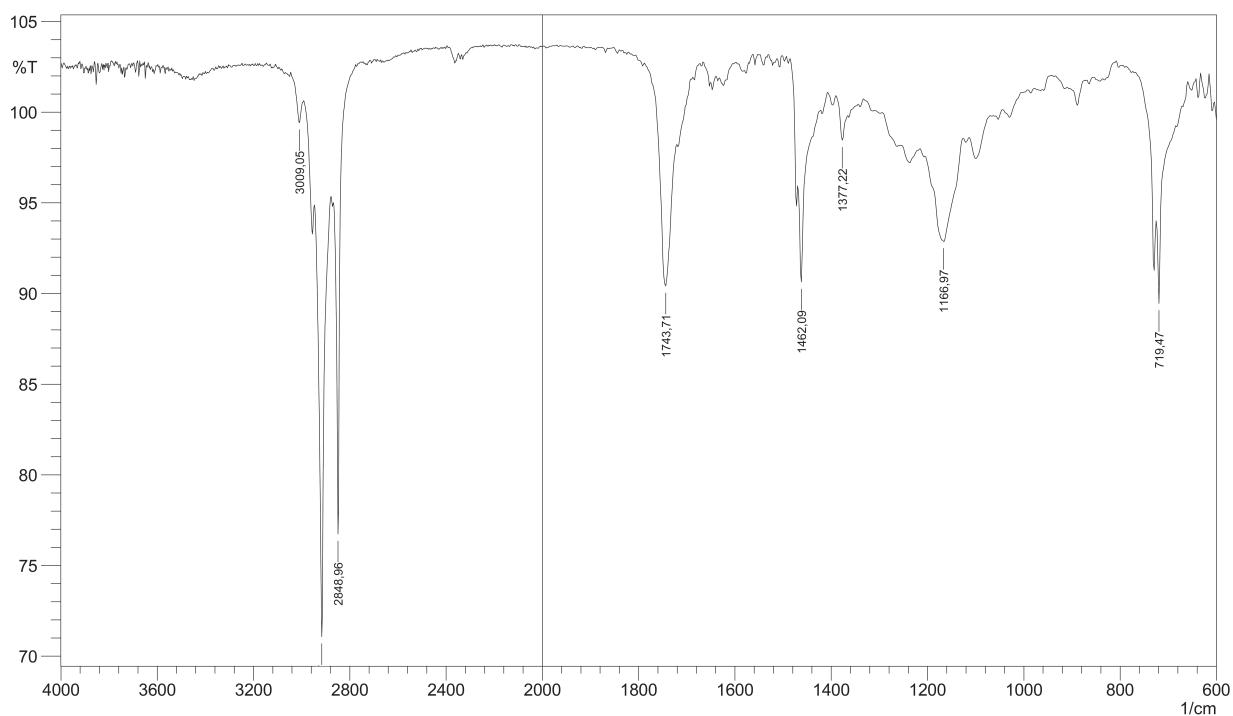
Bahn 1: Sesamsamen-Methanolextrakt 3 µl auf 6 mm

Bahn 2: Bockshornsamen-Methanolextrakt 3 µl auf 6 mm

Bahn 3: **Cannabissamen-Methanolextrakt** 3 µl auf 6 mm

Bahn 4: Sitosterin und Lupeol je 1 µl auf 6 mm (R_f 0,27); (R_f 0,45)

IR-Spektroskopie



IR-Spektrum von Cannabissamenöl: Die ν (C-H)-Valenzschwingungen der CH₂-Gruppen sind bei 2916 bis 2848 cm⁻¹ zu erkennen. Die entsprechenden δ (C-H)-Deformationsschwingungen der Methyl- und Methylengruppen treten bei 1462 cm⁻¹ auf. Die ν (C-H)-Valenzschwingung an der Doppelbindung zeigt sich bei 3009 cm⁻¹ und die γ Deformationsschwingungen können bei 719 und 729 cm⁻¹ erkannt werden.

Die ν (C=O)-Valenzschwingung des Esters erkennt man bei 1743 cm⁻¹ und die zugehörige ν (C-O)-Valenzschwingung der Glycide kann der Absorption bei 1166 cm⁻¹ als relativ intensive Bande zugeordnet werden.

Die IR-Spektren von Fetten Ölen ähneln sich weitestgehend, es sind häufig nur minimale Lageverschiebungen der charakteristischen Banden zu erkennen.