



universität
wien

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Differenzierung und Identifizierung saurer, lipophiler Arzneistoffe

verfasst von | submitted by

Alice Faul-Sinzinger BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree
of

Magistra pharmaciae (Mag. pharm.)

Wien | Vienna, 2026

Studienkennzahl lt. Studienblatt |
Degree programme code as it appears
on the student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von | Supervisor:

ao. Univ.-Prof. i.R. Mag. Dr. Ernst Urban

DANKSAGUNG

Die Recherche und die experimentellen Untersuchungen wurden im Jahr 1995 am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien durchgeführt.

Diese Masterarbeit wäre ohne die Unterstützung meiner Familie und vieler Menschen nicht möglich gewesen.

Allen voran möchte ich mich bei Herrn Univ. Prof. Herbert Bartsch und Frau Dr. Hannelore Kopelent-Frank für das interessante Thema und die ursprüngliche Betreuung meiner Arbeit bedanken.

Nach einer langjährigen Pause möchte ich mich herzlich bei Herrn a.o. Univ. Prof. Mag. Dr. Ernst Urban bedanken, der meine Betreuung übernommen hat und mir mit wertvollen Tipps und seiner Geduld die Fertigstellung meiner Arbeit ermöglichte.

Gerne möchte ich mich auch bei Herrn Erich Möllner für seine stetige Hilfe bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Familie, allen voran bei meinen Kindern Dominik, Philipp und Leonie für ihr Verständnis bedanken und dass sie mir Raum und Zeit gelassen haben, um diese Masterarbeit fertigstellen zu können.

Einen wesentlichen Beitrag zu meinem Erfolg haben auch meine Eltern Silvia und Josef, sowie mein Mann Richard beigetragen, für ihre Unterstützung bin ich sehr dankbar.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Zusammenfassung	1
2. Abstract	2
3. Einleitung	3
4. Theoretischer Teil	4
4.1. Problemstellung	4
4.2. Substanzauswahl und Nomenklatur	6
4.3. Analysenkriterien für die Entwicklung des Analysenschemas	7
4.4. Aufbau des Analysenschemas	10
4.3.1. Differenzierung und Identifizierung Gruppe A	12
4.3.2. Differenzierung und Identifizierung Gruppe B	12
4.3.3. Differenzierung und Identifizierung Gruppe C	13
4.3.4. Differenzierung und Identifizierung Gruppe D	14
4.3.5. Differenzierung und Identifizierung Gruppe E	16
4.3.6. Differenzierung und Identifizierung Gruppe F	16
4.3.7. Differenzierung und Identifizierung Gruppe G	18
5. Experimenteller Teil	20
5.1. Hinweise zur praktischen Durchführung	20
5.1.1. Chemische Reaktionen	20
5.1.2. Dünnschichtchromatographie	23
5.2. Analysengang	25
5.2.1. Gruppe A: gefärbte Substanzen	31
5.2.2. Gruppe B: Substanzen, die bei Zwikker Reaktion positiv Reagieren	33
5.2.3. Gruppe C: Substanzen, die mit Eisen(III)chlorid positiv Reagieren	36
5.2.4. Gruppe D: Substanzen, die bei der Beilstein Reaktion positiv Reagieren	40
5.2.5. Gruppe E: Substanzen, die mit Murexid positiv reagieren	45
5.2.6. Gruppe F: Substanzen, die mit Schwefelsäure/Paraform positiv reagieren	46
5.2.7. Gruppe G: Substanzen, die mit Schwefelsäure/Paraform negativ reagieren	50
6. Anhang	55
7. Abkürzungsverzeichnis	73
8. Literaturverzeichnis	75

1. Zusammenfassung

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war die Erstellung eines Analysenschemas, welches die eindeutige Identifizierung offizineller, lipophiler, saurer Arzneistoffe nach Anwendung eines Stas-Otto-Trennschemas erlaubt. Die entwickelte Strategie verfolgt auch eine algorithmische Systematisierung, bei der jeder Schritt fest definiert ist, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gewährleisten zu können. Dementsprechend waren nur solche Analysenkriterien einzusetzen, welche auch nach dem Trennvorgang zu eindeutigen Resultaten führen. Nicht einsetzbar waren naturgemäß Kriterien wie Ermittlung der Elementarzusammensetzung oder des Schmelzverhaltens. Vorteilhaft hingegen erwies sich der Einsatz der Dünnschichtchromatographie DC sowie einfache chemische Reaktionen. Bei der Erstellung der Arbeitsvorschriften wurde darauf geachtet, durch kleine Proben- und Reagenzmengen sowie geringe Lösungsmittelmengen für die DC die Umweltbelastung durch chemischen Abfall zu minimieren. Neben geringem Material- und Zeitaufwand für die Analyse waren auch didaktische Aspekte zu berücksichtigen, da das Analysenschema der praktischen Ausbildung von Studierenden der Pharmazie im Fach Arzneimittelanalytik dienen soll.

Durch unspezifische Reaktionen werden die insgesamt 100 Verbindungen in 7 größere Gruppen aufgeteilt. Innerhalb der Gruppe wird zumeist anhand des DC-Migrationsverhaltens eine Differenzierung vorgenommen, welche durch Kombination mit einem weiteren DC-System bzw. nasschemischen Reaktionen meist die Identifizierung der Substanz erlaubt. Nur in jenen Fällen, wo dies nicht zweifelsfrei möglich ist, werden weitere Reaktionen, in wenigen Fällen auch ein weiteres DC-System eingesetzt.

2. Abstract

The task of the present work was the creation of an analysis scheme, which allows the unique identification of officinal, lipophilic, acidic drugs after application of a Stas-Otto separation scheme. The strategy developed also follows an algorithmic systematization in which every step is clearly defined in order to ensure the reproducibility of the results. Accordingly, only such analysis criteria were used that also lead to unambiguous results after the separation process. Naturally, criteria such as determination of elemental composition or melting behavior were not applicable. Conversely, the use of thin-layer chromatography TLC as well as simple chemical reactions proved advantageous. When creating the working instructions, care was taken to minimize environmental impact through small sample and reagent amounts as well as low solvent quantities for TLC. In addition to low material and time effort for the analysis, didactic aspects also had to be considered, since the analysis scheme is intended to serve the practical training of pharmacy students in the subject of drug analysis.

Through nonspecific reactions, the total amount of 100 compounds are divided into 7 larger groups. Within the group, differentiation is usually made based on the migration behavior in TLC, which, when combined with another TLC system or wet chemical reactions, usually allows the identification of the substance. Only in cases where this is not clear than further reactions, and in a few cases, another TLC system, were used.

3. Einleitung

Systematische Analysenschemata für chemische Substanzen finden ihre Anwendung nicht nur im Bereich der Lebensmittelchemie, Umweltchemie oder im forensischen Betrieb, sondern auch zur Identifizierung von Arzneistoffen. Für den universitären Betrieb und vor allem für die Ausbildung von Pharmaziestudenten im Fach Arzneimittelanalytik sollten diese Analysengänge nach Möglichkeit eine Erzielung leicht interpretierbarer Ergebnisse ermöglichen und trotzdem eine Analysensicherheit liefern. Insbesondere ist hier zu beachten, dass auf möglichst einfache chemische und apparative Methoden zurückgegriffen wird.

In der Vergangenheit wurden sowohl auf nationalem wie auch am internationalen Sektor Schemata zur Identifizierung erstellt.

Im Werk von Karl Winterfeld¹ „Organisch-Chemische Arzneimittelanalyse“ (1965) wird beschrieben wie chemische Arzneimittelanalytik im 20. Jh. strukturiert war.

R. Klaus Müller² beschrieb in seinem Buch „Die toxikologisch-chemische Analyse“ (1976) Schritte zur Identifikation von Giften, Arzneimitteln bzw. toxischen Substanzen in verschiedenen Matrices bzw. Proben. Allerdings wurden keine Analysenschemata angewendet, sondern vielmehr eine substanz- und datenorientierte Auflistung hinsichtlich der angewandten Analyseverfahren wie beispielsweise Schmelzverhalten, Dünnschichtchromatographie, UV-Spektrophotometrie und IR-Spektroskopie vorgenommen.

H. Auterhoff und K.-A. Kovar³ stellten in ihrem Buch „Identifizierung von Arzneistoffen“ 5. Auflage (1985) ein solches Analysenschema für 175 ausgewählte Arzneistoffe dar. Die Verbindungen werden zunächst auf Basis eines modifizierten Stas-Otto-Trennganges in Gruppen aufgegliedert. Die weitere Differenzierung erfolgt mittels systematischer Dünnschichtchromatografie, unterstützt von Farbreaktionen, UV- und IR-Spektren. Die Nachteile dieses Analysenganges sind neben der Anwendung von DC-Systemen, bei denen DC-Platten größerer Formate (20 cm x 20 cm) mit dadurch begründetem höherem Verbrauch an Lösungsmittel Verwendung finden, auch die eingeschränkte Auswahl an Arzneistoffen.

Ein an der Universität Wien entwickeltes Analysenschema von G. Heinisch und H. Kopelent-Frank⁴ „Identifizierung offizineller Arzneistoffe“ (1993) hingegen ermöglicht die Identifizierung von über 500 offizinellen Wirk- und Hilfsstoffen aus dem Europäischen Arzneibuch (Österr. Ausgabe 1990) und den Arzneibüchern des deutschen

Sprachraumes (Pharmacopoea Helvetica VI; Deutsches Arzneibuch, 9. Ausgabe). Weiters werden auch bereits zirka 20 Verbindungen aus dem DAB10 berücksichtigt. Das Schema unterteilt das Kollektiv der berücksichtigten Substanzen anhand der Elementarzusammensetzung in 5 Gruppen. Weitere Kriterien für die Differenzierung waren vorwiegend einfache chemische Reaktionen, die die Substanz durch ihre chemische Reaktivität, des Weiteren aber auch durch das Schmelzverhalten oder aufgrund des dünnschichtchromatografischen Migrationsverhalten identifizieren. Es soll auch erwähnt werden, dass im aktuell gültigen Europäischen Arzneibuch⁵, 11. Ausgabe (2023) inkl. 7. Nachtrag die Dünnschichtchromatografie im Kapitel 2 der allgemeinen Methoden unter 2.2.7. beschrieben wird und auch zur Identifizierung von Arzneistoffen herangezogen wird. Hier findet man genaue Vorschriften hinsichtlich der Ausrüstung, Durchführung, visueller Auswertung und quantitativer Bestimmung.

Da der Einsatz des Analysenschemas vorwiegend im Rahmen der pharmazeutisch-chemischen Ausbildung im Fach der Arzneimittelanalytik geplant ist, sollten möglichst einfache und leicht nachvollziehbare Methoden zur Anwendung kommen. Es bestand teilweise auch nicht die Möglichkeit auf die in Lit.4 angegebenen Analysenvorschriften zurückzugreifen, da von einem Substanzgemisch ausgegangen wird.

Nach welchen Gesichtspunkten die Analysenschritte ausgewählt wurden, wird im theoretischen Teil behandelt, der Analysengang selbst im experimentellen Teil dieser Arbeit. Im Anhang ist abschließend noch eine Zusammenstellung der analysierten Arzneistoffe mit Strukturformel, Reaktionsergebnissen und chromatographischem Laufverhalten angeführt.

4. Theoretischer Teil

4.1. Problemstellung

Um aus einem Substanzgemisch oder einem fertigen Arzneimittel eine unbekannte Verbindung identifizieren zu können, muss dieses Gemisch im ersten Schritt aufgetrennt werden, was in der Regel mittels eines modifizierten Stas-Otto-Verteilungsschema erfolgt. Dies beruht auf einer Verteilung der Analysensubstanzen zwischen einer wässrigen und einer mit dieser nicht mischbaren Phase eines organischen Lösungsmittels. Mittels gezielter Änderung des pH-Wertes der wässrigen Phase soll die Bildung und Zerlegung von Salzen mit konträrem Lösungsverhalten hervorgerufen werden. Die Salze sind zu meist hydrophil, ihre zugrundeliegenden Säuren oder Basen in Bezug auf Arzneistoffe oft lipophil.

Dieses Trennprinzip ist aber der Grund, weshalb die Anwendung des am Wiener Institut entwickelten Analysenschemas zum Nachweis von Substanzen, welche dem Stas-Otto Trenngang unterworfen wurden, mitunter nicht zum gewünschten Erfolg führen kann. Bei der Identifikation nach Heinisch/Kopelent-Frank⁴ werden die Verbindungen aufgrund ihrer Elementarzusammensetzung mittels Lassaigne Aufschluss untergliedert. Beim Vorliegen einer Reinsubstanz ist dies ein zuverlässiges Analysekriterium. Wird ein Gemisch jedoch dem Stas-Otto Trenngang vor der Analyse unterworfen, so liegen beispielsweise organische Säuren nach dem Ausschütteln mit wässriger Ammoniaklösung als Ammoniumsalz vor oder Hydrohalogenide von Stickstoffbasen wären nicht mehr in der Phase zu finden. Auch würden zahlreiche andere angewendete Reaktionen zu unterschiedlichen Ergebnissen und unter Umständen zu einer Zuteilung zu einer falschen Analysengruppe führen. Die Analysensicherheit wäre somit in Frage zu stellen.

Aufgabe der vorliegenden und mehrerer weiteren Arbeiten^{6,7,8} zu diesem Thema war es nun, für das Kollektiv sämtlicher pharmazeutischer Hilfs- und Wirkstoffe gemäß Lit.4 ein systematisches Analysenschema zu erstellen, welches geeignet ist, einen Arzneistoff in einem Gemisch auch nach Anwendung eines Stas-Otto-Trennschemas zweifelsfrei und mit einfacher Methodik zu identifizieren. Da bei dieser Themenstellung ein Substanzkollektiv von mehr als 500 Substanzen berücksichtigt wird, wurde die Aufteilung in mehrere Arbeiten^{6,7,8} vorgenommen. Zur Differenzierung und Identifizierung der wasserunlöslichen Neutralstoffe und organischen Basen mit einem K_B von ungefähr

10⁻⁹, vergleiche Lit.⁶ und Lit.⁷, basische Arzneistoffe, welche aus ammoniakalischer Lösung mit Dichlormethan extrahierbar sind, vergleiche Lit.⁸.

Die vorliegende Arbeit behandelt einen repräsentativen Querschnitt offizineller Verbindungen, welche aus der NH₄OH(I)-Phase extrahierbar sind. Daraus ergab sich die Anzahl von insgesamt 100 überwiegend lipophile Substanzen (vgl. Seite 25) mit sauren Eigenschaften.

Arzneistoffe, bei denen die Reproduzierbarkeit der Identifikationsnachweise nicht mit Sicherheit gewährleistet war, wurden in mehreren Gruppen geführt, um Fehlerquellen auszuschließen und eine eindeutige Identifikation zu gewährleisten.

4.2. Substanzauswahl und Nomenklatur

In der vorliegenden Arbeit wurden chemisch eindeutig definierte, bei Raumtemperatur feste Arzneistoffe und deren Salze des Europäischen Arzneibuches (Ph. Eur., Österr. Ausgabe 1990) und auch die entsprechenden Wirkstoffe des Österreichischen Arzneibuches (ÖAB, Ausgabe 1990), des Deutschen Arzneibuches (DAB 9) und des Schweizer Arzneibuches (Ph. Helv. VI) erfasst.

Ausgewählt wurden all jene Arzneistoffe, die aufgrund ihres Lösungsverhaltens nach dem Stas-Otto-Gang Abb. 1 (vgl. S. 10) in der Ammoniak-I-Phase anfallen. Des Weiteren werden auch offizinelle organisch-chemische Hilfsstoffe erfasst, soweit sie zwischen den Phasen anfallen. Außerdem wurden auch Substanzen miteinbezogen, deren Löslichkeitsverhalten nicht eindeutig war und somit auch nicht ausgeschlossen werden konnte, dass diese Verbindungen vielleicht auch in kleinen Mengen in der Ammoniak-I-Phase anfallen.

Um die Vollständigkeit des Analysenschemas gewährleisten zu können, müssen an dieser Stelle auch jene Substanzen erwähnt werden, die zum Zeitpunkt der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht verfügbar waren oder deren Anschaffung für den

universitären Betrieb zu kostenintensiv gewesen wäre. Aus diesen Gründen wurden sie im Analysengang nicht berücksichtigt.

Es handelt sich dabei um folgende Substanzen:

Acid. Folicum

Acid. Undecylenicum

Butobarbital(um) = Butethal

Hexöstrol(um)

Oestradiol(um)

Oestron

Sulfanilacetamidum phthalylatum

Thymolum iodatum

Thyroxin

Wirk- und Arzneistoffe der Ph. Eur. werden gemäß der Nomenklatur dieses Arzneibuches bezeichnet, für die übrigen Substanzen gilt die Nomenklatur des ÖAB, DAB bzw. der Ph. Helv. Diese Vorgangsweise bedingt natürlich eine Uneinheitlichkeit der Bezeichnungen, scheint aber angebracht, um ein rasches Auffinden der Monografie einer Substanz im entsprechenden Arzneibuch zu gewährleisten.

4.3. Analysenkriterien für die Entwicklung des Analysenschemas

Bei der Entwicklung eines Analysenschemas müssen zu Beginn Überlegungen angestellt werden, mit welchen Methoden man möglichst rasch, kostengünstig und ohne großem apparativen Aufwand zu möglichst validen Ergebnissen kommt. Aus diesen Gründen können einige sehr effiziente Methoden hier keine Anwendung finden, da das vorliegende Trennschema vor allem im Studienbetrieb angewendet werden soll. Dazu zählen vor allem spektroskopische Methoden wie IR- oder UV-Spektroskopie, deren Anwendung mit hohen Kosten verbunden ist.

Die Anforderungen an ein solches im Studienbetrieb einsetzbares Analysenschema bestehen vor allem darin Methoden anzuwenden, die einerseits eine hohe Trefferquote und auch Reproduzierbarkeit garantieren, sich aber andererseits durch einen geringen apparativen und auch finanziellen Aufwand auszeichnen. Zu diesen Methoden zählt neben einfachen chemischen und physikalischen Verfahren bzw. Eigenschaften mit Sicherheit auch die Dünnschichtchromatografie in verschiedenen Fließmitteln, die sich im Studienbetrieb auch für den Einsatz sehr gut eignet.

Die unterschiedliche **chemische Reaktivität** der einzelnen Verbindungen wurde als Analysenkriterium herangezogen. Einfache chemische Farbreaktionen ermöglichen ein rasches und unkompliziertes Arbeiten – ein weiterer Vorteil für den Studienbetrieb. Die angewendeten Arbeitsanleitungen finden sich im experimentellen Teil.

Genauso wurden **physikalische Eigenschaften** wie Farbe und Erscheinungsform, aber auch die Löslichkeit in verschiedenen Medien zur Identifikation herangezogen.

Die Charakterisierung des **dünnschichtchromatografischen Verhaltens** einer Substanz erfolgt durch den Bezug auf eine mitchromatografierte Standardsubstanz anhand des R_f -Wertes (vgl. S. 28ff). Neben der Molekülmasse, der funktionellen Gruppen wie beispielsweise $-OH$, $-NH_2$ und der Löslichkeit einer Substanz im Fließmittel, sind auch noch die Polarität, der Ladungszustand einzelner Gruppen und die Wechselwirkung mit der stationären Phase mitbestimmende Faktoren. Da auch mit Änderungen der äußeren Bedingungen (z.B. Temperatur, Luftfeuchtigkeit) mit Schwankungen der R_f -Werte gerechnet werden muss, werden zur Erzielung einer möglichst hohen Analysensicherheit und Reproduzierbarkeit R_f -Bereiche statt Einzelwerte angegeben. Diese Bereiche wurden für die betreffende Substanz in Reihenversuchen zu jeweils 10 Durchläufen ermittelt. Aus Gründen der Zeitersparnis und der besseren Reproduzierbarkeit wird die Ausführung der Dünnschichtchromatografie auf DC-Fertigfolien vorgenommen. Das vorgeschlagene Format (2,5 cm x 10 cm) gewährleistet nicht nur kurze Analysenzeiten, sondern auch eine Geringhaltung der Fließmittelmenge. Dies führt auch zu einer Reduktion der Kosten und Umweltbelastung. Ein weiterer Vorteil der Dünnschichtchromatografie ist zweifellos die niedere Nachweisgrenze für Substanzen, sodass auch schon geringste Mengen der

Analysensubstanz nachgewiesen werden können. Hinweise zur praktischen Durchführung finden sich im experimentellen Teil.

Nach der Festlegung der verwendbaren Methoden war die nächste Herausforderung eine sinnvolle Reihung der Analysenkriterien vorzunehmen, sodass eine effiziente und auch rationell sinnvolle Vorgangsweise möglich war. Für die erste grobe Gruppenzuteilung werden Substanzen zunächst nach gemeinsamen Merkmalen geordnet. Solche Eigenschaften können beispielsweise gleicher Farbkreis, gleiches Ergebnis bei einer chemischen Reaktion oder auch ein ähnliches chromatografisches Laufverhalten bei gleichem Fließmittel sein. Durch eine logisch kombinierte Reihenfolge der Analysenschritte werden diese Gruppen wieder durch weitere Differenzierungsschritte in kleinere Einheiten unterteilt bis schließlich eine eindeutige Identifizierung möglich ist.

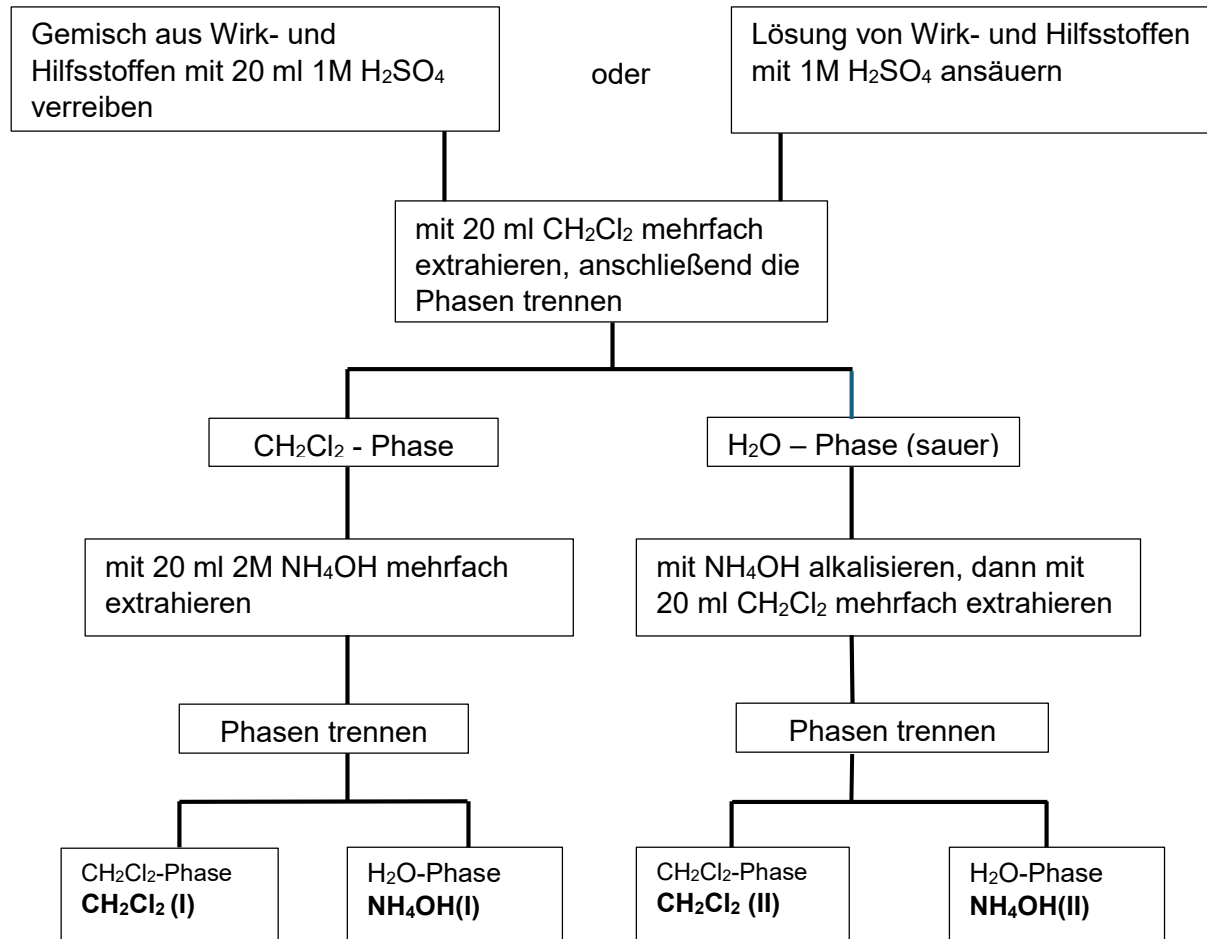
Die eindeutige Erkennung der Substanz erfolgt also nach einer algorithmischen Systematisierung, demnach ein jeweiliges Ergebnis den nächsten Arbeitsschritt bestimmt. Grundlegend und zwingend wichtig für ein reproduzierbares Ergebnis ist daher die strikte Einhaltung der vorgegebenen Reihenfolge des Analysenganges.

Abschließend soll noch erwähnt werden, dass bei allen durchgeführten Analysen ist besonders darauf zu achten, dass die geltenden Laborvorschriften strikt eingehalten werden. Dazu gehört das Tragen von Schutzkleidung, Labormantel und Handschuhen sowie gegebenenfalls eine Schutzbrille, da viele der eingesetzten Substanzen gesundheitsgefährdend sind.

4.4. Analysenschema

STAS-OTTO-TRENNANG

Abb. 1



→ Alle Phasen im Vakuum zur Trockene bringen!

Folgende Verbindungstypen sind in den verschiedenen Phasen zu erwarten:

CH₂Cl₂ (I): wasserunlösliche Neutralstoffe, organische Basen (schwach basisch)

NH₄OH (I): in Wasser schwer lösliche organische Verbindungen (sauer)

zB: Benzoesäure, Barbitursäure

CH₂Cl₂: organische Basen, Amine

NH₄OH(II): Zucker, anorganisch leicht wasserlösliche Salze, sehr gut lösliche organische Säuren (α -OH-Säuren, Sulfonsäuren, Essigsäuren), quartäre N-Verbindungen

Die Aufgabenstellung dieser Arbeit war die Erstellung einer Analysenvorschrift für Substanzen, die nach dem Stas-Otto-Trenngang in der Ammoniak(I)-Phase detektiert wurden. Dabei handelt es sich um Verbindungen mit überwiegend saurem, lipophilen Charakter.

Danach wird das Substanzkollektiv durch einfache, aber zum Teil durchaus spezifische chemische Reaktionen in 7 Untergruppen aufgeteilt.

4.4.1. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe A

Ein erstes Kriterium zur Identifikation ist die Eigenfarbe der Substanzen, diese werden in der Gruppe A behandelt.

Von den sechs vorliegenden Stoffen sind eine orange (**Methotrexat**), 4 rot und eine metallisch grün-schwarz (**Merbromin**) gefärbt. Die 4 roten Verbindungen werden einerseits durch ihre verschiedenen Floreszenzen unter UV₃₆₆ (**Fluoresceinum**, **Phenolsulfonphthalein**) und andererseits bei fehlender Fluoreszenz durch Zugabe von 0,5 ml 2N Natriumhydroxyd-Lösung und der darauffolgenden unterschiedlichen Färbung unterschieden und identifiziert (**Rifampicin und Rifamycin**). Wobei für diese zwei Substanzen auch noch eine deutliche Unterscheidung getroffen werden kann durch Zugabe von 0,4M Eisen(III)chlorid.

4.4.2. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe B

Ein erster Schritt zur weiteren Differenzierung in der Gruppe B ist die Durchführung der Zwikker Reaktion (R 4), wobei 9 von den 14 Substanzen eine violette Färbung, 2 eine schwach violette und 3 eine rötlich-violette Färbung auf der Tüpfelplatte ergeben.

Im nächsten Schritt wird 2N Natriumhydroxyd-Lösung und 0,02M Kaliumpermanganat hinzugefügt zur wässrigen Lösung des gesuchten Stoffes, es kommt zur Grünfärbung und anschließender Detektion und Identifikation mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Aceton, Standard: Ethosuximid) aufgrund der verschiedenen Laufstrecken (**Allobarbital, Hexobarbital, Secobarbital**).

In einem weiteren Schritt wird die Probe mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg Paraform am Wasserbad erhitzt, es kommt zu einer rotviolett bis dunkelbraunen Färbung und anschließender Identifikation mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Aceton, Standard: Vanillin) aufgrund der verschiedenen Laufstrecken (**Diphenylhydantoin, Phenobarbital, Methylphenobarbital**).

Ergab die Reaktion nicht diese Färbung, wird der Probe 1 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt und anschließend auf einem 50°C temperierten Wasserbad erhitzt. Ergibt dies eine rot bis rotbraune Färbung, wird mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Aceton, Standard: Vanillin) eine Identifizierung getroffen (**Cyclobarbital, Pentobarbital**).

War die Zwikker-Reaktion zuvor eindeutig blauviolett (dunkel), so kann mittels DC (Fließmittel: Ethylacetat/n-Butanol/ NH_3 konz., Standard: Paracetamol) aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Amobarbital** und **Barbital** unterschieden werden.

Ergab die Zwikker Reaktion zuvor eine sehr hellviolett oder rötliche Färbung, so wird die Probe mit Wasser und 2-3 Tropfen 0,1M Silbernitrat-Lösung versetzt und 1 min. zum Sieden erhitzt. Bei einer positiven Reaktion (weißer Niederschlag oder Trübung wird mittels DC (Fließmittel: Ethylacetat, Standard: Vanillin) aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Methylthiouracil**, **Propylthiouracil** und **Thiopental** unterschieden.

War keine der oben genannten Reaktionen erfüllt oder positiv, so handelt es sich um **Ethosuximid**.

4.4.3. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe C

Der nächste Schritt zur Zuordnung in die Gruppe C erfolgt mit der Durchführung der Reaktion mit Eisen(III)chlorid (R 2), wobei 17 Substanzen eine Farbreaktion zeigen, wobei 4 Substanzen auch in anderen Gruppen aufscheinen. Bei der Reaktion kommt es zur Komplexbildung zwischen Fe^{3+} und freien phenolischen OH-Gruppen, 7 Substanzen reagieren mit einer hellviolett bis violetten Färbung, 5 Substanzen mit einer zitronengelb bis rötlichen Färbung und 4 mit einer grün, bräunlich oder grün-schwarzen Färbung.

-Ergab die Reaktion mit Eisen(III)chlorid eine hellviolette bis violette Färbung, so wird die Probe in 0,5 ml konz. HNO_3 eingetragen.

Wenn sich eine gelb bis braune Färbung gegen eine Blindprobe ergibt, wird die Probe in Wasser mit Ninhydrin zum Sieden gebracht, eine Blauviolett-färbung identifiziert **Tyrosin**. Tritt keine Färbung auf, so wird zur weiteren Unterscheidung eine DC (Fließmittel: Dichlormethan/Ameisensäure, Standard: Vanillin) angefertigt und aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Vanillinum**, **Phenolum**, Propylum gallicum und Resorcinolum unterschieden. Da sich die R_x -Bereich von Propylum gallicum und Resorcinolum überschneiden, wird zur genaueren Identifikation noch mit 0,5 ml 2N Natronlauge versetzt, bei einer Gelbfärbung handelt es sich um **Propylum gallicum**, bei einer Rosafärbung um **Resorcinol**.

Resultiert die Reaktion mit konz. HNO_3 in keiner Färbung gegen eine Blindprobe, so kann mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Ameisensäure, Standard: Vanillin) aufgrund des Fließverhaltens **Acid. p-aminosalicylicum**, **Salicylamid** und **Acid. salicylicum** identifiziert werden.

-War die Färbung mit Eisen(III)chlorid zitronengelb, so lässt dies eindeutig auf **Acid. amygdalicum** schließen. Bei gelb bis hin zu rötlicher Färbung wird die Probe in 0,5 ml konz. HNO_3 eingetragen, ergibt dies eine pinke Färbung, so kann man eindeutig auf **Phenolsulfonphthalein** schließen. Danach wird mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol, Standard: Vanillin) aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Rifamycin**, **Pyrogallol** und **Guajacolum** unterschieden.

-Zeigte sich bei der Reaktion mit Eisen(III)chlorid eine grüne, bräunliche oder schwarz - grüne Färbung, so wird die Probe mit 2N Natronlauge versetzt. Ergibt sich nach ca. 2 min. eine Braunfärbung, so kann man eindeutig auf **Levodopum** schließen (wird in konz. HNO_3 intensiv rot), wird die Lösung orangefarben und fluoresziert unter UV_{366} grün, dann lässt das auf **Fluoresceinum** schließen, wird sie orangerot und fluoresziert nicht deutet dies auf **Rifampicin** hin. Ergibt sich eine leicht gelbliche Reaktion (kann als negativ gewertet werden), so ist damit **Hydroxychinolinum** identifizierbar (zeigt in konz. HNO_3 keine Färbung).

4.4.4. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe D

Ein erster Schritt zur weiteren Differenzierung der Substanzen der Gruppe D ist die Prüfung auf die Anwesenheit von Chlor, Brom oder Jod mittels Beilstein-Probe. Diese erfolgt durch Aufbringen der Substanz auf ein ausgeglühtes Kupferblech (R 5). Die Reaktion ist als positiv zu bewerten, wenn die grüne Flammenfärbung mindestens 1 min. anhält. Zu beachten ist, dass auch halogenfreie Verbindungen wie Harnstoff-, Pyridin- und Pyrazol-Derivate eine positive Färbung der Flamme ergeben.

Danach erfolgt eine grobe Auftrennung aller Verbindungen mit positiver Beilstein-Probe mittels DC (Fließmittel: Toluol/Isopropanol/25%iger NH_3 , kein Standard!) aufgrund ihres Laufverhaltens, eingeteilt wird in 3 Zonen. In Summe werden 17 Substanzen klassifiziert, wobei 2 Substanzen dieser Gruppe auch in einer anderen Gruppe aufscheinen:

Zone 1: 0-1 cm (4 Substanzen)

Zone 2: 1,5-5 cm (9 Substanzen)

Zone 3: 5,5-8 cm (4 Substanzen)

Die Probe aus der Zone 1 ist schwarz-grün gefärbt und die methanolische Lösung der DC war pink gefärbt: **Merbromin**. War das nicht der Fall, so wird der Probenansatz mit 1 ml H_2SO_4 konz. versetzt und unter UV_{366} betrachtet, ergibt sich eine grüne Fluoreszenz, so weist das auf **Methotrexatum** hin. Ergab das Ergebnis keine

Fluoreszenz, so wird die Probe mit 1 ml H₂SO₄ konz. versetzt, vorsichtig erhitzt und rasch wieder abgekühlt, danach mit 0,5 ml Chloroform überschichtet und geschüttelt. Färbt sich die organische Schicht violett so deutet dies auf **Dijodtyrosinum** hin, wenn keine Färbung entsteht, dann handelt es sich um **Baclofenum**.

Die Probe aus der Zone 2 wird mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg Paraform versetzt, die Reaktion ist als positiv zu werten, wenn sie eine hellgelbe, orange oder braune Färbung ergibt.

Wenn die Reaktion positiv war, dann wird der Probenansatz mit konz. Schwefelsäure erhitzt, rasch abgekühlt und mit 0,5 ml Chloroform überschichtet und geschüttelt. Färbt sich die organische Phase violett, so wird mittels DC (Fließmittel: Essigsäure/Toluol, Standard: Coffein) aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Levothyroxinum** und **Liothyronin** unterschieden. Färbt sich die Phase nicht, dann wird mit folgender DC (Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat/Eisessig, Standard: Vanillin) zwischen **Acid. Etacrynicum** und **Indometacin** unterschieden.

War die *anfängliche Reaktion der Zone 2* mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg Paraform nicht gefärbt, so wird mittels DC (Fließmittel: Toluol/Isopropanol/25%iger NH₃, Standard: Coffein) aufgrund des Laufverhaltens eine weitere Zoneneinteilung getroffen.

-War der R_x-Bereich zwischen 0,28-0,50, so wird die Probe mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure versetzt, erhitzt, rasch wieder abgekühlt und mit 0,5 ml Chloroform überschichtet und geschüttelt. Färbt sich die organische Phase violett, so kann man auf **Diodon** schließen, bleibt sie farblos, wird die Probe mit 5 Tropfen Pyridin und 5 Tropfen 20%iger Natriumhydroxyd-Lösung am Wasserbad 3-5 min. erhitzt. Kommt es zur Rotfärbung der Pyridinphase, so handelt es sich bei der Substanz um **Acid. trichloraceticum**, wenn nicht dann um **Chlorambucilum**.

-War der R_x- Bereich zwischen 0,63-0,80, dann wird die Probe mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und unter UV₃₆₆ betrachtet. Fluoresziert die Lösung violett: **Glibenclamid**, fluoresziert sie nicht: **Chlorpropamidum**.

Die Probe aus der Zone 3 wird mit konz. HNO₃ versetzt, färbt sich die Lösung innerhalb von 2 min. gelb, so kann man **Dichlorophen** identifizieren. Bleibt die Lösung farblos, wird die Probe mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure und 5 mg Natriumnitrit versetzt. Wird die Lösung blass rosa, so kann man auf **Hexachlorophen** schließen. Bleibt sie farblos, wird mittels einer DC (Fließmittel: Toluol/Methanol, Standard: Coffein) aufgrund des Laufverhaltens unterschieden zwischen **Bromdiethylcarbamidum** und **Bromisovalerianylcarbamidum**.

4.4.5. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe E

Ein weiterer Schritt zur Zuordnung in die Gruppe E wird mittels Murexid-Reaktion (R 7) getroffen. Dabei wird die Substanz mit 5-10 mg Kaliumchlorat und 10 Tropfen konz. Schwefelsäure vorsichtig bis zur Trockene eingedampft, der Rückstand wird mit 1 Tropfen konz. Ammoniak-Lösung versetzt. Eine positive, violette Färbung ergeben 2 Substanzen.

Zur weiteren Differenzierung wird eine DC (Fließmittel: Ethylacetat/Methanol/konz. Ammoniak, Standard: Coffein) angefertigt. Aufgrund des Laufverhaltens kann zwischen **Theophyllin** und **Theobromin** unterschieden werden.

4.4.6. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe F

Zur Unterscheidung und Zuteilung der übrig gebliebenen Substanzen, wird die Probe mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg Paraform in der Kälte (!) versetzt. Eine positive Reaktion ist eine deutliche Färbung der Lösung gegen eine Blindprobe. Aufgrund des Ergebnisses ergibt sich eine Gruppengröße mit 21 Substanzen. Verbindungen, die kein positives Reaktionsergebnis zeigten, werden unter 4.4.7. Gruppe G beschrieben.

Die Substanz wird mit 0,5 ml Salpetersäure auf der Tüpfelplatte versetzt, eine deutliche Verfärbung der Lösung in Richtung hellgelb, zart rosa, rot oder braun ist als positiv zu werten.

Wenn die Reaktion positiv war, dann wird die Probe mit 0,5-1 ml 2N Natronlauge versetzt und geschüttelt, färbt sich die Lösung violett, so kann **Phenolphthalein** identifiziert werden, färbt sie sich orangegelb: **Rutin**. Bleibt die Lösung farblos, so wird die Substanz in Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 5 mg 2,6-Dichlorchinonchlorimid (Gibbs Reagenz) in 1-2 Tropfen 2N Natronlauge versetzt.

- Färbt sich die Lösung rotviolett, so ist das ein Anzeichen für **Hexylresorcinol**.

- Bei einer Färbung nach blau oder grün wird 1 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd versetzt und gründlich durchgeschüttelt. Danach wird die Probe hinzugefügt, kommt es dabei zu einer Farbänderung von blaugrau→grau→braun, so ist **Buthylhydroxyanisolum** eindeutig zu identifizieren. Färbt sich die Lösung von gelb/orange→orangerot→rot, muss im Anschluss mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan, Standard: Thymol-1%ig in Methanol) aufgrund des Laufverhaltens unterschieden werden zwischen **β-Naphthol** und **Thymol**.

- Bei einer Färbung nach gelb oder orange wird auch die anfängliche Reaktion mit konz. Salpetersäure auf der Tüpfelplatte betrachtet. War diese Färbung auch gelb, so lässt dieses Ergebnis auf die Substanz **Amoxicillin** schließen. War die Färbung auf der Tüpfelplatte rot oder gelborange, so wird zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt und geschüttelt, danach wird die Probe hinzugefügt und man setzt tropfenweise Wasser hinzu. Wird die Lösung zuerst dunkelblau, dann kornblumenblau, so handelt es sich bei der Substanz um **Diethylstilbestrol**, geht die Lösungsfarbe von rosa nach rot über, so handelt es sich um **Acid. Acetylsalicylicum**. Bleibt die Lösung unverändert rötlich, so kann **Cefaloridin** identifiziert werden.

Wenn die ursprüngliche Reaktion mit Salpetersäure auf der Tüpfelplatte negativ war, dann wird die Probe mit konz. Schwefelsäure und Natriumnitrit versetzt.

- Bei einer Rotfärbung kann **Dienestrol** eindeutig identifiziert werden.

- Bei einer Färbung nach blau oder grün wird die Probe mit konz. Schwefelsäure versetzt, sie färbt sich sofort violett (**Bendroflumethiazidum**) oder bleibt farblos (**Phenylsalicylat**).

-Bei einer Färbung von orange bis gelbbraun und war die anfänglich zur Gruppeneinteilung durchgeführte Reaktion mit konz. Schwefelsäure/Paraform in der Kälte dunkelrot, so lässt sich **Phenoxymethylpenicillin** identifizieren. Falls nicht, wird die Substanz mit 0,5 ml 2N Natronlauge versetzt. Ist dann eine Farbänderung von gelb→orange→rot zu beobachten, so handelt es sich um **Dithranol**. Wenn nicht, wird die Probe auf der Tüpfelplatte mit 5 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt und unter UV₃₆₆ betrachtet. Die Lösung ist hellgelb gefärbt und fluoresziert hellblau (**Acid. cholicum**) oder ist farblos und fluoresziert nicht (**Phenylalanin**).

- Bei einer lediglich hellgelben (=negativ) Färbung wird die Substanz mit 1-2 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt, die Lösung wird gelb oder bleibt farblos.

Bei einem farblosen Resultat kann mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol, Standard: Coffein) aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Benzylpenicillinum** und **Ethyl-4-hydroxybenzoat** unterschieden werden

Bei einer gelben Färbung wird die Probe in Wasser gelöst und mit 1 Tropfen konz. Salzsäure und 1 Tropfen Jod-Lösung versetzt. Das Ergebnis ist entweder eine braun bis schwarze Abscheidung (**Cinchophenum**) oder keine Abscheidung (**Ampicillin anhydricum**).

4.4.7. Differenzierung und Identifizierung der Gruppe G

Die letzte Zuordnung ergibt sich wie in Punkt 4.4.6. im 1. Absatz beschrieben aufgrund eines nicht deutlichen Farbunterschiedes gegen eine Blindprobe aus der Reaktion mit konz. Schwefelsäure/Paraform. In dieser Gruppe werden 22 Substanzen differenziert und identifiziert, wobei 2 Substanzen auch in anderen Gruppen aufscheinen.

Eine weitere Aufteilung in zwei Subgruppen G1 und G2 kann durch Zugabe von 0,5 ml konz. Salpetersäure zur Substanz auf der Tüpfelplatte erzielt werden.

Substanzen, die bei dieser Reaktion eine deutliche Verfärbung wie gelb, rot oder braun ergeben, finden sich in der Subgruppe G1 wieder, Substanzen ohne eine dementsprechende Färbung in der Subgruppe G2.

- Substanzen aus der Subgruppe G1 werden mit 0,5-1 ml Wasser und 2-3 Tropfen 0,1M Silbernitrat-Lösung versetzt und 1 min. zum Sieden gebracht. Als positiv ist eine weiße Trübung oder Niederschlag zu werten - trifft dies zu, so wird noch eine Differenzierung mittels DC (Fließmittel: Ethylacetat, Standard: Vanillin) durchgeführt. Aufgrund ihres Laufverhaltens lassen sich die Substanzen **Methylthiouracil** und **Propylthiouracil** identifizieren. Ist kein Niederschlag oder Trübung zu bemerken, so wird die Substanz mit 1 ml Wasser und ca. 5 mg Ninhydrin versetzt und 1-2 min. zum Sieden erhitzt. Eine Blaufärbung der Lösung lässt die Identifikation von **D,L-Methionin** zu, keine Blaufärbung zeigt **Acetylmethionin**.

- Substanzen aus der Subgruppe G2 werden mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure und 5-10 mg Paraform versetzt und 2 min. am Wasserbad erhitzt (vgl. Punkt 2.3.6. „in der Kälte“!).

Bei einem positiven Ergebnis ergibt die Reaktion eine orange oder gelbbraune Färbung und führt zur Untergruppe G 2.1. und ein negatives, schwach gelbes Ergebnis zur Untergruppe G 2.2.

In der *Untergruppe G 2.1.* wird eine weitere Unterscheidung getroffen durch Zugabe von 1 ml Reagenz (Quecksilber(II)chlorid und Natriumnitrit in Wasser gelöst) und 2-3 min. erhitzen zum Sieden. Danach wird mit Ether geschüttelt, färbt sich die organische Phase rot, liefert dies einen Hinweis auf entweder **Methylis-p-hydroxybenzoas** oder **Propylis-p-hydroxybenzoas**, welche dann mittels DC (Fließmittel: Toluol/Methanol/Eisessig, Standard: Coffein) unterschieden werden können.

Bleibt die organische Phase farblos, wird die Substanz in Ethanol gelöst bzw. suspendiert mit 5 mg 1,3-Dinitrobenzol und 4-5 Tropfen 2N Natriumhydroxyd-Lösung

versetzt, die Lösung färbt sich bei **Acid. dehydrocholicum** langsam violett. Färbt sich die Lösung nicht, wird die Substanz mit konz. Schwefelsäure und 4-Dimethylaminobenzaldehyd kräftig geschüttelt. Nach 1 min. Wartezeit färbt sich die Lösung orange (**Acid. sorbicum**). Bleibt die Reaktion farblos wird die Substanz mit Wasser zum Sieden erhitzt und das Lösungsverhalten betrachtet:

-Substanz löst sich, schäumt beim Schütteln stark: **Acid. agaricinicum**

-Substanz löst sich, schäumt nicht: Zur Unterscheidung wird die Substanz in Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 2N Natriumhydroxyd-Lösung und 1 Tropfen 0,02M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt. **Phenylbutazon** ergibt eine Grünfärbung der Lösung, **Acid. stearicum** nicht.

-Substanz ist nicht löslich, bildet Tröpfchen auf der Oberfläche: Differenzierung und Identifikation mittels DC (Fließmittel Dichlormethan/Methanol/Diethylamin, Standard: Coffein) von **Acid. camphoricum** und **Acid. benzoicum**.

-Substanz ist nicht löslich, bildet auch kein Tröpfchen: **Tolbutamidum**

In der *Untergruppe G 2.2.* wird die Probe zur weiteren Differenzierung mit einem Reagenz (Quecksilber(II)chlorid und Natriumnitrit in Wasser) versetzt und zum Sieden erhitzt. Die Reaktion ergibt eine rote (**Acid. p-aminobenzoicum**) oder orange Färbung (**Carbutamidum**).

Bleibt die Lösung farblos, wird das Lösungsverhalten in Methanol in der Siedehitze betrachtet und als Differenzierungskriterium herangezogen.

Löst sich die Substanz, so kann mittels DC (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol/Diethylamin, Standard: Benzoesäure) aufgrund des Laufverhaltens zwischen **Acid. nicotinicum**, **Saccharin** und **Succinylsulfathiazol** differenziert werden.

Löst sich die Substanz nicht, so wird in Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 2N Natriumhydroxydlösung und 1 Tropfen 0,02M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt. Es entsteht innerhalb von 30 sec. eine Grünfärbung der Lösung (**Biotin**). Wenn nicht, wird die Probe mit Ninhydrin 1-2 min. zum Sieden erhitzt. Aufgrund der Blaufärbung der Lösung kann zwischen **Arginin** (blau) und **Natrium cyclamicum** differenziert werden.

5. Experimenteller Teil

5.1. Hinweise zur praktischen Durchführung

5.1.1. Chemische Reaktionen

Benötigte Ausrüstung:

Spatel

Pinzette

Kupferblech

Pasteurpipette

Weißer Tüpfelplatte

Eprövetten

Eprövetten Halter

Temperiertes Wasserbad

Bunsenbrenner (vorzugsweise Mikrobrenner)

Reagenzflaschen

Indikatorpapier

Benötigte Reagenzien:

2,6-Dichlorchinonchlorimid = Gibbs Reagenz

4-Dimethylaminobenzaldehyd

Eisen(III)chlorid

Kaliumchlorat

0,02M Kaliumpermanganat-Lösung

Kobalt(II)chlorid-Lösung (1%ig in Methanol)

Methanolisch-wässrige Ammoniaklösung (NH_3 conc.: MeOH = 1:2)

Natriumnitrit

2N Natronlauge

Salpetersäure konz.

Schwefelsäure konz.

Paraform

Art und Ausführung der chemischen Reaktionen:

R1: Reaktion mit Kaliumpermanganat im alkalischen Medium

1-2 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser auf einer weißen Tüpfelplatte gelöst bzw. suspendiert und mit 2-3 Tropfen 2N Natronlauge und 1 Tropfen 0,02M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt.

Positive Reaktion: innerhalb von 30 sec. Grünfärbung gegen eine Blindprobe

R2: Reaktion mit Eisen(III)chlorid

1-2 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser auf einer weißen Tüpfelplatte gelöst bzw. suspendiert und mit 1 Tropfen 0,4M Eisen(III)chlorid-Lösung versetzt.

Positive Reaktion: deutlich andere Färbung als eine Blindprobe

R3: Reaktion mit Formaldehyd/konz. Schwefelsäure

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Formaldehyd und ca. 1 mg Substanz versetzt.

Positive Reaktion: deutliche Verfärbung (allenfalls notwendiges Erwärmen wird einzeln angeführt in der Arbeitsvorschrift)

R4: Zwikker-Reaktion

3-5 mg Substanz werden in 0,5 ml Methanol auf einer weißen Tüpfelplatte gelöst bzw. suspendiert und mit 1 Tropfen Kobalt(II)chlorid-Lösung (15%ig in Methanol) und 1 Tropfen methanolisch-wässriger Ammoniak-Lösung (Verhältnis 1:2) versetzt.

Positive Reaktion: blau bis violette Färbung

R5: Beilstein-Probe

1-2 mg Substanz werden auf ein ausgeglühtes (und wieder erkaltetes) Kupferblech aufgebracht und in der nicht leuchtenden Bunsenbrennerflamme erhitzt.

Positive Reaktion: Grünfärbung der Flamme

R6: Reaktion mit Dragendorffs Reagenz

1-2 mg Substanz werden im 0,5-1 ml Wasser auf einer weißen Tüpfelplatte gelöst bzw. suspendiert und mit 1 Tropfen 2M Salpetersäure und 1 Tropfen Reagenz versetzt (eine Mischung von 0,17 g basischem Wismutnitrat, 8 ml Wasser und 2 ml Eisessig wird mit einer Lösung von 1,6 g Kaliumjodid in 4 ml Wasser versetzt).

Positive Reaktion: gelboranger bis rotoranger Niederschlag

R7: Murexid-Reaktion

3-5 mg Substanz werden mit 5-10 mg Kaliumchlorat und 10 Tropfen konz. Salzsäure in einer Epruvette vermengt und vorsichtig zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit 1 Tropfen konz. Ammoniak-Lösung versetzt.

Positive Reaktion: Violettfärbung

In Einzelfällen sind von diesen Reaktionen abweichend Vorschriften vorgesehen. Diese sind an der jeweiligen Stelle im Analysengang angegeben.

5.1.2. Dünnschichtchromatographie

Benötigte Ausrüstung:

DC-Zylinder (Ø 3,5 cm, Höhe 13 cm)

DC-Fertigfolien KGF₂₅₄ (Schichtdicke 0,2 mm, Fa. Merck)

Filterpapier zum Auskleiden des DC-Zylinders

Mikropipette 2µl

Mischzylinder

Scheidetrichter

Mensur 10 ml

UV-Lampe (UV₂₅₄, UV₃₆₆)

Benötigte Standardsubstanzen:

Coffein

Ethosuximid

Paracetamol

Thymol (1%ig in Methanol)

Vanillin

Benötigte Lösungsmittel:

Aceton

Ammoniak-Lösung 25%ig

Aqua destillata

1-Butanol

Chloroform

Dichlormethan

1,4-Dioxan

Eisessig

Ethanol

Methanol

2-Propanol

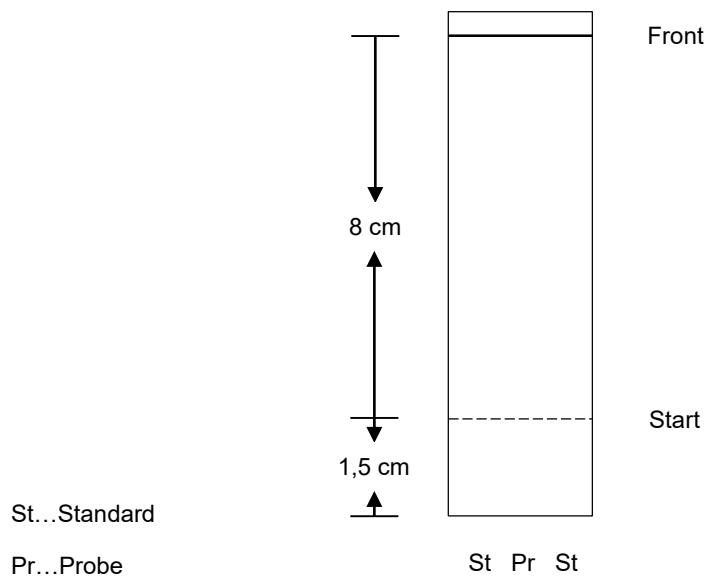
Pyridin

Toluol

Die DC-Fertigfolien (Aufbewahrung in dicht schließenden Gefäßen) werden auf ein Format von 2,5 cm x 10 cm zugeschnitten. Jeweils 2 µl einer 0,2%igen Lösung der Analysensubstanz bzw. der Standardsubstanz in Methanol (falls erforderlich kann auch Ethylacetat als Lösungsmittel verwendet werden) werden auf die zuvor mit Bleistift markierten Startpunkte gemäß Abb. 2 vom unteren Rand der Folie 1,5 cm aufgetragen.

Die Laufstrecke beträgt 8 cm.

Abb. 2



Die Bereitung der Mehrkomponenten-Fließmittel erfolgt in einem Mischzylinder. 5-7 ml des Fließmittels werden in einen, mit Filterpapier (8 cm x 10 cm) ausgekleidet DC-Zylinder (Ø 3,5 cm) übergeführt. Um eine bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erhalten, sollte das Eintreten der Kammersättigung (10 – 15 min) unbedingt abgewartet werden. Nach dem Entwickeln wird das Chromatogramm unter dem Abzug getrocknet. Das mit Lösungsmittel getränkte Filterpapier wird ebenfalls vor dem Verwerfen unter dem Abzug getrocknet und das im DC-Zylinder verbleibende Fließmittel ordnungsgemäß entsorgt.

Die Detektion der Substanzflecken auf dem getrockneten Chromatogramm erfolgt unter dem Licht einer UV-Lampe bei der Wellenlänge von $\lambda=254$ nm bzw. 366 nm. Substanzen, die mangels Fluoreszenzminderung unter der UV-Lampe nicht detektierbar sind, werden durch Einstellen des Chromatogramms in Joddämpfe (Jodkammer) sichtbar gemacht.

Aus der Wanderungsstrecke der Analysensubstanz bezogen auf die Wanderungsstrecke der mitgelaufenen Standardsubstanz erhält man durch Division eine dimensionslose Zahl R_x , deren Wert die Analysensubstanz näher charakterisiert und zur Identifizierung herangezogen werden kann.

$$R_x \text{ Wert} = \frac{\text{Wanderungsstrecke der Analysensubstanz}}{\text{Wanderungsstrecke der Standardsubstanz}}$$

5.2. Analysengang

Das zu analysierende Arzneimittelgemisch wird zunächst wie zuvor beschrieben in einem modifizierten Stas-Otto-Trennschema in die einzelnen Arznei- bzw. Hilfsstoffe aufgetrennt. Hierzu wird das Probenmaterial in Wasser gelöst bzw. suspendiert, mit 20 ml 1M Schwefelsäure angesäuert und mit 20 ml Dichlormethan mehrfach extrahiert. Die gereinigten organischen Phasen werden vor den weiteren Arbeitsschritten über Natriumsulfat getrocknet und anschließend filtriert.

Im Arzneimittelgemisch befindliche Hilfsstoffe können sich ungelöst zwischen den beiden Phasen der ersten Phasentrennung befinden. Die Abtrennung dieser Hilfsstoffe erfolgt durch mehrfache Filtration beider Phasen. Wasserlösliche Hilfsstoffe sind im NH_4OH (II)-Auszug zu erwarten.

Folgende Substanzen wurden in der NH_3 (I)-Phase berücksichtigt:

Acetylmethionin(um)
Acid. Acetylsalicylicum
Acid. Agarinicum
Acid. Amygdalicum
Acid. p-Aminobenzoicum
Acid. p-Aminosalicylicum
Acid. Benzoicum
Acid. Camphoricum

Acid. Cholicum
Acid. Cyclohexenylethylbarbituricum = Cyclobarbital
Acid. Dehydrocholicum
Acid. Diallylbarbituricum = Allobarbital
Acid. Diethylbarbituricum = Barbital
Acid. Etacrynicum
*Acid. Folicum**
Acid. Nicotinicum
Acid. Salicylicum
Acid. Sorbicum
Acid. Stearicum
Acid. Trichloraceticum
*Acid. Undecylenicum**
Amobarbital(um)
Amoxicillinum
Ampicillinum anhydricum
Arginin

Baclofen(um)
Bendroflumethiazid(um)
Benzylpenizillin(um)
Biotin(um)
Bromdiethylacetylcarbamid(um)
Bromisovalerianylcarbamid(um)
*Butobarbital(um)**
Buthylhydroxyanisol(um)

Carbutamid(um)
Cefaloridin(um)
Chlorambucil(um)
Chlorpropamid(um)
Cinchophen(um)

Dichlorophen(um)

Dienoestrol(um)
Diethylstilbestrol(um)
Dijodtyrosin(um)
Diodon(um)
Diphenylhydantoin(um) = Phenytoin
Dithranol(um)

Ethosuximid
Ethyl-4-hydroxybenzoat

Fluorescein(um)

Glibenclamid(um)
Guajacol(um)

Hexachlorophen(um)
Hexobarbital(um)
*Hexoestrol(um)**
Hexylresorcin(olum)
Hydroxychinolin(um)

Indometacin(um)
Levodopum
Levothyroxinum
Liothyronin

Merbromin(um)
D,L-Methionin(um)
Methotrexat(um)
Methylis parahydroxybenzoas
Methylphenobarbital(um)
Methylthiouracil(um)

β -Naphthol(um)

Natrium cyclamicum

*Oestradiol(um)**

*Oestron(um)**

Pentobarbital(um)

Phenobarbital(um)

Phenol(um)

Phenolphthalein(um)

Phenolsulfonphthalein(um)

Phenoxymethylpenicillin(um)

Phenylalanin

Phenylbutazon(um)

Phenylum salicylicum

Propylis parahydroxybenzoas

Propylthiouracil(um)

Propylum gallicum

Pyrogallol(um)

Resorcinol(um)

Rifampicin(um)

Rifamycin(um)

Rutin(um)

Saccharin(um)

Salicylamid(um)

Secobarbital(um)

Succinylsulfathiazol(um)

*Sulfanilacetamidum phthalylatum**

Theobromin(um)

Theophyllin(um)

Thiopental(um)

Thymol(um)

*Thymol(um) iodatum**

*Thyroxin(um)**

Tolbutamid(um)

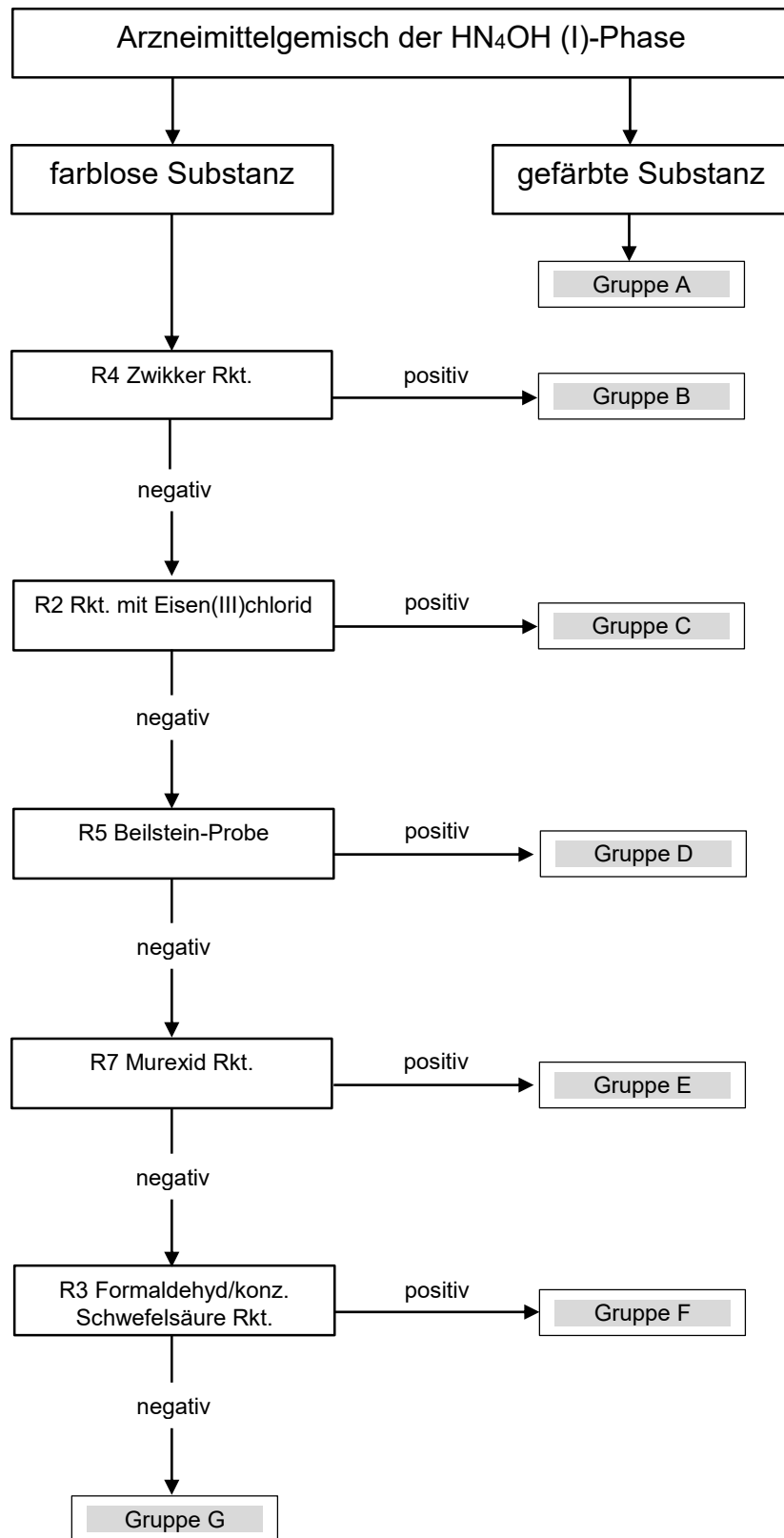
Tyrosin(um)

Vanillin(um)

**Jene Substanzen waren zum Zeitpunkt der Erstellung des Analysenschemas nicht erhältlich oder für den universitären Betrieb zu kostenintensiv. Sie werden zwar in der Auflistung angeführt, sind jedoch nicht in der tatsächlichen Identifizierung berücksichtigt.*

Analysenschema graphisch:

Abb. 3



5.2.1. Gruppe A: Gefärbte Substanzen

Substanzen:

Eindeutig identifiziert: **Gruppe A1:** Methotrexat (orange)
 Gruppe A2: Merbromin (metallisch grün-schwarz)

Weitere Auftrennung: **Gruppe A3:** Fluorescein (rot)
 Phenolsulfonphthalein (rot)
 Rifampicin (rot)
 Rifamycin (rot)

Weitere Nachweise:

Gruppe A1: Identifikation Methotrexat

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Formaldehyd und ca. 1 mg Substanz versetzt.

- Die Lösung färbt sich gelb → **Methotrexat**

Gruppe A2: Identifikation Merbromin

1-2 mg Substanz wird mit 1 ml H₂O versetzt, Substanz löst sich.

- Die Lösung färbt sich intensiv rot → **Merbromin**

Gruppe A3: weitere Differenzierung

1-2 mg Substanz wird mit 1 ml NH₄OH versetzt und anschließende Betrachtung unter UV₃₆₆

- Die Lösung färbt sich gelb-orange und fluoresziert unter UV₃₆₆ intensiv grün, bei Zugabe von 1M H₂SO₄ kein Farbwechsel und Fluoreszenz bleibt erhalten → **Fluorescein**
- Die Lösung färbt sich pinkfarben und fluoresziert unter UV₃₆₆ nicht, bei Zugabe von 1M H₂SO₄ ergibt sich ein Farbwechsel nach orange → **Phenolsulfonphthalein**
- Die Lösung färbt sich gelb-orange bis rot und fluoresziert unter UV₃₆₆ nicht → Rifampicin oder Rifamycin

→ weitere Differenzierung:

1-2 mg Substanz wird mit ca. 0,5 ml 2N Natriumhydroxyd-Lösung versetzt

- Die Lösung ist orangerot: 1-2 mg Substanz wird mit 1 ml H₂O versetzt: Die Lösung ist gelb bis gelbbraun → **Rifampicin**
- Die Lösung ist violett-rot: In einer trockenen Epruvette werden zu 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure ca. 1 mg Substanz zugesetzt: Die Lösung ist orange bis hellrot gefärbt → **Rifamycin**

5.2.2. Gruppe B: ZWIKKER REAKTION positiv

Substanzen:

Die Zwikker Reaktion ergab folgende Färbung:

violett → Allobarbital
Amobarbital
Barbital
Cyclobarbital
Hexobarbital
Methylphenobarbital
Pentobarbital
Phenobarbital
Secobarbital

schwach violett → Diphenylhydantoin
Ethosuximid

rötlich-violett → Methylthiouracil
Propylthiouracil
Thiopental

Hinweis: Um den Unterschied der Violett-Töne besser erkennen zu können, wird eine Vergleichsprobe mit einem bekannten Barbiturat empfohlen.

Weitere Nachweise, die chronologische Einhaltung der Schritte ist essentiell:

1-2 mg Substanz wird in 0,5-1 ml H₂O gelöst bzw. suspendiert und mit 2-3 Tropfen 2M Natriumhydroxyd-Lösung und 1 Tropfen 0,02M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt.

- Innerhalb von 30 sec. entsteht eine Grünfärbung

positiv → Allobarbital, Hexobarbital oder Secobarbital

Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan/Aceton (9+1)

Standard: Ethosuximid

R _x -Bereich	Substanz
0,89 – 0,92	Allobarbital
1,02 – 1,06	Secobarbital
1,22 – 1,32	Hexobarbital

negativ → weiter bei **Gruppe B1**

Gruppe B1

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Paraform und ca. 1 mg Substanz versetzt, danach wird 2 min. am Wasserbad bei 50°C erhitzt.

- rotviolette bis dunkelbraune Färbung → Diphenylhydantoin, Phenobarbital oder Methylphenobarbital

Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan/Aceton (9+1)

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,38 – 0,43	Diphenylhydantoin
0,55 – 0,61	Phenobarbital
1,00 – 1,05	Methylphenobarbital

- farblos oder gelbliche Färbung → weiter bei **Gruppe B2**

Gruppe B2

Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure werden 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd und 1-2 mg Substanz zugesetzt, danach wird 1 min. am Wasserbad bei 50°C erhitzt:

- rot bis rotbraune Färbung → **Cyclobarbital, Pentobarbital**

Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan/Aceton (9+1)

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,56 – 0,59	Cyclobarbital
0,70 – 0,73	Pentobarbital

- farblos oder leicht gelbliche Färbung → weiter bei **Gruppe B3**

Gruppe B3

- Zwikker-Reaktion war eindeutig blauviolett (dunkel) gefärbt → Amobarbital, Barbital

Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Ethylacetat/1-Butanol/ NH_3 konz. (8+2+1)

Standard: Paracetamol

R _x -Bereich	Substanz
0,54 – 0,62	Barbital
0,79 – 0,87	Amobarbital

- Zwikker-Reaktion war sehr hellviolett oder rötlich gefärbt → Methylthiouracil, Propylthiouracil, Thiopental, Ethosuximid

→ Weitere Differenzierung: 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml H_2O und 2-3 Tropfen 0,1M Silbernitratlösung versetzt und 1 min. zum Sieden erhitzt.

- Es bildet sich eine weiße Trübung bzw. ein weißer gallertiger Niederschlag.

positiv → Methylthiouracil, Propylthiouracil, Thiopental

Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Ethylacetat

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,65 – 0,72	Methylthiouracil
0,88 – 0,95	Propylthiouracil
1,08 – 1,11	Thiopental

negativ → **Ethosuximid**

5.2.3. Gruppe C: Reaktion mit Eisen(III)chlorid positiv

Reaktion mit Eisen(III)chlorid:

1-2 mg Substanz werden in 0,5-1ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 1 Tropfen 0,4M Eisen(III)chlorid-Lösung versetzt

→ positive Reaktion: deutlich andere Färbung als eine Blindprobe mit Wasser (schwach rötlich-gelb gilt als negativ zu werten)

Substanzen:

Acid. p-aminosalicylicum

Acid. Amygdalicum

Acid. Salicylicum

Fluoresceinum

Guajacolum

Hydroxychinolinum

Levodopum

Phenolsulfonphthalein

Phenolum

Propylum gallicum

Pyrogallolum

Resorcinolum

Rifampicin

Rifamycin

Salicylamidum

Tyrosinum

Vanillinum

Die Aufteilung in Gruppen erfolgt nach erhaltener Reaktionsfarbe:

- hellviolett bis violett → **Gruppe C1**

Acid. Salicylicum

Acid p-aminosalicylicum

Phenolum

Propylum gallicum

Resorcinolum

Salicylamid

Tyrosinum

Vanillinum

- rot oder gelb im Vgl. zur Blindprobe → **Gruppe C2**

Acid. amygdalicum

Guajacolum

Phenolsulfonphthalein

Pyrogallolum

Rifamycin

- grün-schwarz, bräunlich oder grün → **Gruppe C3**

Fluoresceinum

Hydroxychinolinum

Levodopum

Rifampicin

Gruppe C1: die Reaktionsfarbe mit Eisen(III)chlorid war hellviolett bis violett

1-2 mg Substanz wird in 0,5 ml HNO₃ konz. eingetragen

- Die Lösung färbt sich im Vgl. zur Blindprobe nicht →

Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan/Ameisensäure (9,5+0,5)

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,34 – 0,39	Acid. p-aminosalicylicum
0,46 – 0,49	Salicylamid
0,83 – 0,85	Acid. Salicylicum

- Die Lösung färbt sich gelb bis braun gegen eine Blindprobe mit Wasser →

Weitere Differenzierung: 2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml Wasser und ca. 5 mg Ninhydrin versetzt, danach wird 1-2 min zum Sieden erhitzt.

Die Lösung färbt sich blau-violett.

→ ja: **Tyrosinum**

→ nein: Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan/Ameisensäure (8,5+0,5)

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,11 – 0,14	Propylum gallicum°
0,15 – 0,19	Resorcinolum°
0,97 – 1,01	Vanillin
1,09 – 1,12	Phenolum

° Unterscheidung dieser Substanzen:

1 mg Substanz wird mit 0,5-1 ml 2N Natronlauge versetzt, die Lösung färbt sich innerhalb von 30 sec.

- gelb → **Propylum gallicum**

- rosa → **Resorcinolum**

Gruppe C2: die Reaktionsfarbe mit Eisen(III)chlorid war

- zitronengelb → **Acid. amygdalicum**

- andersfarbig → 1-2 mg Substanz wird in 0,5 ml konz. HNO₃ eingetragen

→ Die Lösung ist pink → **Phenolsulfonphthalein**

→ Die Lösung ist andersfarbig → Weitere Differenzierung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol (10+9,5+0,5)

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,05 – 0,09	Rifamycin
0,78 – 0,82	Pyrogallol
1,09 – 1,13	Guajacolum

Gruppe C3: die Reaktionsfarbe mit Eisen(III)chlorid war grün-schwarz oder grün

1-2 mg Substanz wird mit 2N NaOH versetzt.

- Die Lösung färbt sich orange und fluoresziert unter UV₃₆₆ grün, die Substanz selbst ist rot gefärbt → **Fluoresceinum**

- Die Lösung ist orangerot und fluoresziert nicht unter UV₃₆₆ → **Rifampicin**

- Die Lösung färbt sich nach ca. 2 min braun → **Levodopum**

→ Zusätzliche Nachweismöglichkeit: Die Substanz färbt sich in 0,5 ml HNO₃ konz. eingetragen rot

- Die Lösung färbt sich leicht gelb oder bleibt farblos

→ Zusätzliche Nachweismöglichkeit: Substanz färbt sich in 0,5 ml HNO₃ konz. eingetragen nicht → **Hydroxychinolin**

5.2.4. Gruppe D: Substanzen, die eine positive Beilstein-Reaktion ergeben

Substanzen:

Acid. Etacrynicum
Acid. Trichloraceticum
Baclofenum
Bromdiethylacetylcarbamidum
Bromisovalerianylcarbamidum
Chlorambucilum
Chlorpropamidum
Dichlorophenum
Dijodtyrosinum
Diodon
Glibenclamidum
Hexachlorophenum
Indometacin
Levothyroxinum
Liothyronin
Merbromin
Methotrexatum

Beilstein-Reaktion: Prüfung auf Chlor, Brom oder Jod mit einem ausgeglühten Kupferblech

Bei dieser Reaktion entstehen in der Bunsenbrennerflamme flüchtige Kupferhalogenide, die eine grüne bis blaugrüne Flammenfärbung ergeben.

Die Reaktion ist als positiv zu bewerten, wenn die Flammenfärbung mindestens 1 Minute anhält. Zu beachten ist, dass auch halogenfreie Verbindungen wie Harnstoff, Pyridin- und Pyrazol-Derivate eine grüne Flammenfärbung ergeben.

- Es erfolgt nun die Auftrennung in 3 Untergruppen mittels DC:

Fließmittel: Toluol/Isopropanol/25%iger NH_3 (3+6+1)

Standard: keiner

Detektion: unter UV₂₅₄

Laufstrecke: 8 cm

Anschließend wird die Laufstrecke vermessen und die unbekannte Substanz aufgrund ihrer Laufhöhe in eine der drei folgenden Zonen zugeordnet:

Zone 1: 0 – 1 cm → weiter bei **Gruppe D 1**

Zone 2: 1,5 – 5 cm → weiter bei **Gruppe D 2**

Zone 3: 5,5 – 8 cm → weiter bei **Gruppe D 3**

Gruppe D 1:

Die Substanz ist schwarz-grün gefärbt und die methanolische Lösung war pink gefärbt, bei der Auftrennung mittels DC waren im Bereich der Zone 1 pink und orange gefärbte Flecken zu erkennen.

→ positiv: **Merbromin**

→ negativ: 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml H₂SO₄ konz. versetzt und unter UV₃₆₆ betrachtet.

- Die Lösung ist gelb und ergibt unter UV₃₆₆ eine grüne Fluoreszenz, die Substanz selbst ist orange gefärbt

→ positiv: **Methotrexat**

→ negativ: 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml H₂SO₄ konz. versetzt, vorsichtig erhitzt und rasch wieder abgekühlt. Anschließend überschichtet man mit 0,5 ml Chloroform und schüttelt die Lösung. Die organische Phase färbt sich violett.

→ positiv: **Dijodtyrosinum**

→ negativ: **Baclofenum**

Gruppe D 2:

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Paraform und ca. 1 mg Substanz versetzt, die Lösung färbt sich hellgelb, orange oder braun.

→ positiv: weiter bei Gruppe D 2.1.

→ negativ: weiter bei Gruppe D 2.2.

Gruppe D 2.1.

2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und vorsichtig erhitzt, rasch abgekühlt und dann vorsichtig mit ca. 5 ml Chloroform überschichtet. Danach wird die Lösung leicht geschüttelt, die organische Phase färbt sich violett.

→ positiv: weiter bei Gruppe D 2.1.1.

→ negativ: weiter bei Gruppe D 2.1.2.

Gruppe D 2.1.1.

Weitere Differenzierung mittels DC:

Fließmittel: Essigsäure/Toluol (3+2)

Standard: Coffein

R _x -Bereich	Substanz
0,75 – 0,85	Liotyronin
0,96 – 1,04	Levotyroxin

Gruppe D 2.1.2.

Weitere Differenzierung mittels DC:

Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat/Eisessig (5+4,5+0,5)

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,46 – 0,49	Acid. Etacrynicum
0,86 – 0,92	Indometacin

Gruppe D 2.2.

Weitere Differenzierung mittels DC:

Fließmittel: Toluol/Isopropanol/25%ger NH₃ (3+6+1)

Standard: Coffein

R _x -Bereich	Substanz
0,28 – 0,50	<i>weiter bei Gruppe D 2.2.1.</i>
0,63 – 0,80	<i>weiter bei Gruppe D 2.2.2.</i>

Gruppe D 2.2.1.

2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und vorsichtig erhitzt, rasch abgekühlt und dann vorsichtig mit ca. 5 ml Chloroform überschichtet. Danach wird die Lösung leicht geschüttelt, die organische Phase färbt sich violett.

→ positiv: **Diodon**

→ negativ: 2-3 mg Substanz werden mit 5 Tropfen Pyridin und 5 Tropfen 20%iger Natriumhydroxid-Lösung versetzt und 3-5 min am Wasserbad erhitzt, die Pyridinphase färbt sich rot.

→ positiv: **Acid. Trichloraceticum**

→ negativ: **Chlorambucilum**

Gruppe D 2.2.2.

2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und unter UV₃₆₆ betrachtet.

→ die Lösung fluoresziert violett: **Glibenclamid**

→ die Lösung fluoresziert nicht: **Chlorpropamidum**

Gruppe D 3

2-3mg Substanz werden mit HNO₃ konz. versetzt, die Lösung färbt sich innerhalb von 2 min gelb.

→ positiv: **Dichlorophen**

→ negativ: Zu 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure werden ca. 5 mg Natriumnitrit zugesetzt, die Lösung färbt sich rosa, die Färbung verblasst.

→ positiv: **Hexachlorophen**

→ negativ: Weitere Differenzierung mittels DC:

Fließmittel: Toluol/Methanol (8+2)

Standard: Coffein

R_x-Bereich	Substanz
0,98 – 1,04	Bromisovalerianylcarbamidum^a
1,12 – 1,16	Bromdiethylcarbamidum^a

^a zusätzliche Unterscheidung, wenn R_x-Bereich nicht eindeutig zuordenbar ist:

1-2 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 2-3 Tropfen 2M Natriumhydroxid-Lösung und 0,02M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt. Die Lösung färbt sich innerhalb von 30 sec grün.

→ positiv: **Bromdiethylcarbamidum**

→ negativ: **Bromisovalerianylcarbamidum**

5.2.5. Gruppe E: Substanzen, die eine positive Murexid-Reaktion zeigen

Substanzen:

Theobromin

Theophyllin

Murexid-Reaktion:

3-5 mg Substanz werden mit 5-10 mg Kaliumchlorat und ca. 10 Tropfen konz.

Schwefelsäure vermischt und vorsichtig zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit 1 Tropfen konz. Ammoniaklösung versetzt. Die Lösung färbt sich violettrot.

Anschließend Unterscheidung mittels DC:

Fließmittel: Ethylacetat/Methanol/konz. Ammoniak (8+1+1)

Standard: Coffein

R_x-Bereich	Substanz
0,16 – 0,21	Theophyllin
0,58 – 0,65	Theobromin

5.2.6. Gruppe F: Substanzen, die mit Schwefelsäure/Paraform eine Färbung ergeben

Schwefelsäure/Paraform – Reaktion:

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Paraform und ca. 1 mg Substanz in der Kälte versetzt.

Die Lösung zeigt eine deutliche Färbung.

Substanzen:

Acid. acetylsalicylicum

Acid. Cholicum

Amoxicillin

Ampicillin anhydricum

Bendroflumethiazidum

Benzylpenicillinum

Buthylhydroxyanisol

Cefaloridin

Cinchophenum

Dienestrol

Diethylstilbestrol

Dithranol

Ethyl-4-hydroxybenzoat

Hexylresorcinol

β-Naphthol

Phenolphthalein

Phenoxymethylpenicillin

Phenylalanin

Phenylsalicylat

Rutin

Thymol

Nächster Schritt:

1 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml konz. Salpetersäure auf der Tüpfelplatte versetzt.

Die Lösung färbt sich hellgelb, zart rosa, rot oder braun.

→ positiv: weiter bei Gruppe F 1

→ negativ: weiter bei Gruppe F 2

Gruppe F 1

2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml 2N Natronlauge versetzt und geschüttelt. Die Lösung färbt sich:

→ violett: **Phenolphthalein**

→ orangegelb: **Rutin**

→ andere Färbung: 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit ca. 5 mg 2,6-Dichlorchinonchlorimid (Gibbs-Reagenz) und 1-2 Tropfen 2M Natronlauge versetzt.

Die Lösung färbt sich:

→ rotviolett: **Hexylresorcinol**

→ blau oder grün: weiter bei Gruppe F 1.1.

→ gelb oder orange (=negativ): weiter bei Gruppe F 1.2.

Gruppe F 1.1.

Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure werden 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt. Nach gründlichem Schütteln wird ca. 1 mg Substanz beigelegt.

Es kommt zu einer Farbänderung von:

→ blaugrau > grau > braun: **Buthylhydroxyanisol**

→ gelb bis orange > orangerot > rot: Unterscheidung mittels DC

Fließmittel: Dichlormethan

Standard: Thymol (1%ig in Methanol)

R _x -Bereich	Substanz
0,47 – 0,54	B-Naphthol

0,93 – 1,00	Thymol
-------------	---------------

Gruppe F 1.2.

Bei der Reaktion mit konz. Salpetersäure auf der Tüpfelplatte, war die Lösung gefärbt:

→ gelb: **Amoxicillin**

→ rot: Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure werden 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt. Nach gründlichen Schütteln wird ca. 1 mg Substanz zugesetzt, anschließend wartet man ca. 1 min. und setzt dann tropfenweise 2-3 ml Wasser zu.

Die Lösung färbt sich:

→ rosa > rot **Acid. acetylsalicylicum**

→ zuerst dunkelblau, dann kornblumenblau: **Diethylstilbestrol**

→ nicht und bleibt unverändert rötlich: **Cefaloridin**

Gruppe F 2

Zu 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure werden ca. 5 mg Natriumnitrit zugesetzt. Die Lösung färbt sich:

→ rot: **Dienestrol**

→ blau oder grün: weiter bei Gruppe F 2.1.

→ orange bis gelbbraun: weiter bei Gruppe F 2.2.

→ gelb: weiter bei Gruppe F 2.3.

Gruppe F 2.1.

2-3 mg Substanz werden mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure versetzt., die Lösung färbt sich sofort violett:

→ ja: **Bendroflumethiazidum**

→ nein: **Phenylsalicylat**

Gruppe F 2.2.

Die Lösung färbte sich nach Reaktion mit Schwefelsäure/Paraform dunkelrot:

→ ja: **Phenoxymethylpenicillin**

→ nein: 2-3 mg Substanz werden mit 0,5 ml 2N Natronlauge versetzt, es kann eine Färbänderung der Lösung von gelb > orange > rot beobachten:

→ ja: **Dithranol**

→ nein: 1-2 mg Substanz werden auf der Tüpfelplatte mit 2-3 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt und anschließend unter UV₃₆₆ betrachtet.

→ die Lösung ist hellgelb gefärbt und fluoresziert hellblau: **Acid. Cholicum**

→ die Lösung ist farblos und fluoresziert nicht: **Phenylalanin**

Gruppe F 2.3.

1-2 mg Substanz werden mit 5 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt. Die Lösung ist:

→ farblos: *Unterscheidung mittels DC*:

Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (9+1)

Standard: Coffein

R _x -Bereich	Substanz
0,17 – 0,21	Benzylpenicillinum
1,19 – 1,27	Ethyl-4-hydroxybezoat

→ gelb: 2-3 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 1 Tropfen konz. Salzsäure und 1 Tropfen Jod-Lösung (0,2 g Jod und 0,4 Kaliumjodid werden in 1-2 ml Wasser gelöst und zu 10 ml verdünnt) versetzt.

Es kommt zu einer braunen bis schwarzen Abscheidung/Niederschlag.

→ ja: **Cinchophenum**

→ nein: **Ampicillin anhydricum**

5.2.7. Gruppe G: Substanzen, deren Lösung bei der Reaktion mit Schwefelsäure/ Paraform keine Färbung ergibt

Schwefelsäure/Paraform – Reaktion:

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Paraform und ca. 1 mg Substanz in der Kälte versetzt.

Die Lösung zeigt keine Färbung.

Substanzen:

Acetylmethionin

Acid. Agaricinicum

Acid. p-aminobenzoicum

Acid. benzoicum

Acid. camphoricum

Acid. dehydrocholicum

Acid. nicotinicum

Acid. sorbicum

Acid. stearicum

Argininhydrochlorid

Biotin

Carbutamid

Methionin

Methylis-p-hydroxybenzoas

Methylthiouracil

Natriumcyclamicum

Phenylbutazon

Propylis-p-hydroxybenzoas

Propylthiouracil

Saccharin

Succinylsulfathiazol

Tolbutamid

1 mg Substanz wird auf der Tüpfelplatte mit 0,5 ml konz. Salpetersäure versetzt. Es tritt eine deutliche Verfärbung der Lösung auf: gelb, rot oder braun

→ ja: weiter bei Gruppe G 1

→ nein: weiter bei Gruppe G 2

Gruppe G 1

2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml Wasser und 2-3 Tropfen 0,1M Silbernitrat-Lösung versetzt und 1 min zum Sieden erhitzt.

Es tritt eine weiße Trübung der Lösung oder ein gallertiger Niederschlag auf.

→ ja: Unterscheidung mittels DC

Fließmittel: Ethylacetat

Standard: Vanillin

R _x -Bereich	Substanz
0,60 – 0,67	Methylthiouracil
0,87 – 0,95	Prpylthiouracil

→ nein: 2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml Wasser und ca. 5 mg Ninhydrin versetzt, danach wird 1-2 min zum Sieden erhitzt.

Die Lösung färbt sich blau.

→ ja: **D,L-Methionin**

→ nein: **Acetylmethionin**

Gruppe G 2

In einer trockenen Epruvette werden 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure mit 5-10 mg Paraform und ca. 1 mg Substanz versetzt und 2 min. am Wasserbad erhitzt.

Die Lösung färbt sich:

→ orange-, gelbbraun: weiter bei Gruppe G 2.1.

→ schwach gelb: weiter bei Gruppe G 2.2.

Gruppe G 2.1.

3-5 mg Substanz werden mit 1 ml Reagenz (0,7 g Quecksilber(II)chlorid und 0,5 g Natriumnitrit in 10 ml Wasser gelöst) versetzt und 2-3 min zum Sieden erhitzt, die entstehende Färbung geht beim Schütteln in die organische Phase über.

→ rot: Unterscheidung mittels DC

Fließmittel: Toluol/Methanol/Eisessig (8+1+1)

Standard: Coffein

R _x -Bereich	Substanz
1,17 – 1,23	Methylis-p-hydroxybenzoas
1,24 – 1,32	Propylis-p-hydroxybenzoas

→ keine Färbung: 2-3 mg Substanz werden mit 0,5 ml Ethanol gelöst bzw. suspendiert, mit ca. 5 mg 1,3-Dinitrobenzol und 4-5 Tropfen 2M Natriumhydroxid-Lösung versetzt. Die Lösung färbt sich langsam violett:

→ ja: **Acid. dehydrocholicum**

→ nein: Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure gibt man 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd hinzu und schüttelt kräftig. Anschließend fügt man ca. 1 mg Substanz hinzu und wartet ca. 1 min.

Die Lösung färbt sich orange.

→ ja: **Acid. sorbicum**

→ nein: 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml Wasser versetzt und zum Sieden erhitzt.

Die Substanz ist:

→ löslich, schäumt stark beim Schütteln:

Acid. agaricinicum

→ löslich, schäumt nicht:

weiter bei Gruppe G 2.1.1.

→ nicht löslich, bildet Tröpfchen auf der Oberfläche:

weiter bei Gruppe G 2.1.2.

→ nicht löslich, bildet keine Tröpfchen:

Tolbutamidum

Gruppe G 2.1.1.

1-2 mg Substanz werden in 0,5 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 2-3 Tropfen 2M Natriumhydroxid-Lösung und 1 Tropfen 0,02 M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt.

Die Lösung färbt sich innerhalb von 30 sec grün.

→ ja: **Phenylbutazon**

→ nein: **Acid. stearicum**

Gruppe G 2.1.2.

Unterscheidung mittels DC:

Fließmittel: Dichlormethan/Methanol/Diethylamin (14+2+0,5)

Standard: Coffein

Es ist eine Fluoreszenzminderung auf der Kieselgelplatte zu erkennen:

→ nein: **Acid. camphoricum** (keine Minderungen auch nicht bei höheren Konzentrationen, daher nicht detektierbar)

→

R _x -Bereich	Substanz
0,98 – 1,04	Acid. benzoicum

ja:

Gruppe G 2.2.

3-5 mg Substanz werden mit 1 ml Reagenz (0,7g Quecksilber(II)chlorid und 0,5g Natriumnitrit werden in 10 ml Wasser gelöst) versetzt und 2-3 min. zum Sieden erhitzt.

Die Lösung färbt sich:

→ rot: **Acid. p-aminobenzoicum^a**

→ orange: **Carbutamid^a**

^azusätzliche Unterscheidung: der obige Ansatz wird noch mit 1 ml Ether überschichtet und geschüttelt.

Die organische Phase färbt sich:

→ gelb: Acid. p-aminobenzoicum

→ bleibt farblos: Carbutamid

→ färbt sich nicht: 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml Methanol versetzt und zum Sieden erhitzt.

Die Substanz ist:

→ löslich: Unterscheidung mittels DC:

Fließmittel: Dichlormethan/Methanol/Diethylamin (14+2+0,5)

Standard: Benzoessäure

R_x-Bereich	Substanz
0,16 – 0,21	Succinylsulfathiazol
0,67 – 0,75	Saccharin
1,12 – 1,20	Acid. nicotinicum

→ unlöslich: 1-2 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 2-3 Tropfen 2M Natriumhydroxid-Lösung und 1 Tropfen 0,02M Kaliumpermanganat-Lösung versetzt.

Die Lösung färbt sich innerhalb von 30 sec grün.

→ ja: Biotin

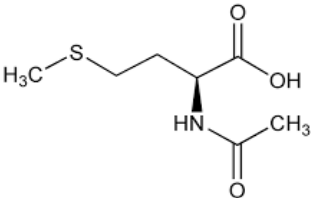
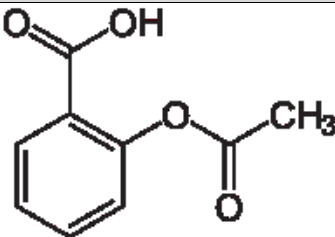
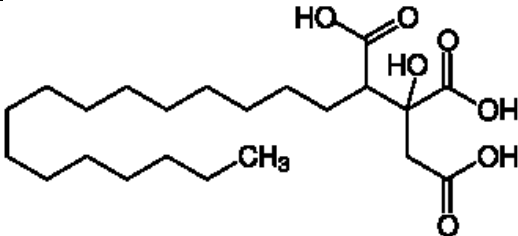
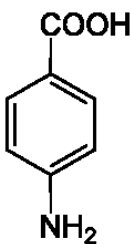
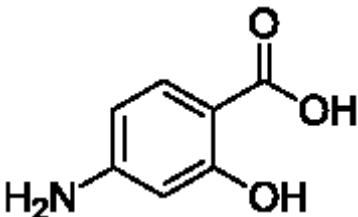
→ nein: 2-3 mg Substanz werden mit ca. 5 mg Ninhydrin versetzt und anschließend zum Sieden erhitzt. Die Lösung färbt sich:

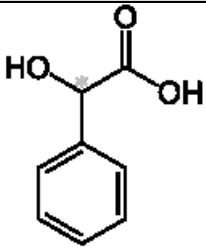
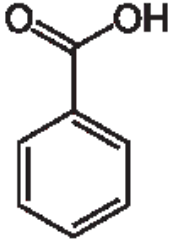
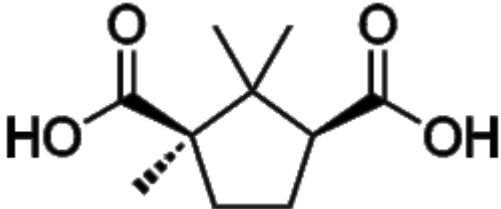
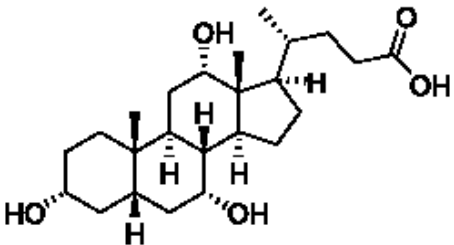
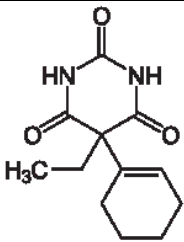
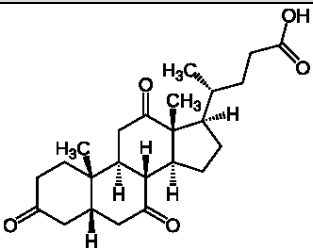
→ blau: **Argininhydrochlorid**

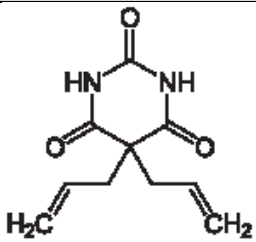
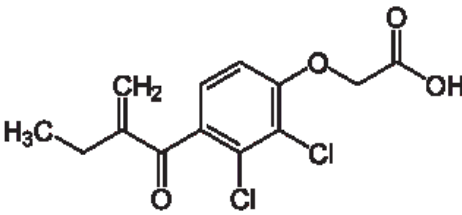
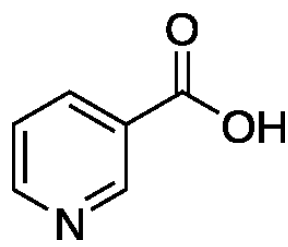
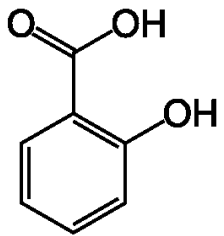
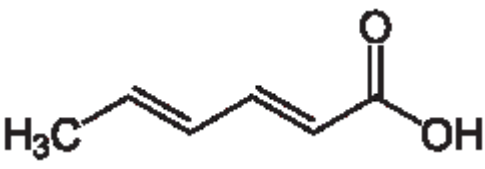
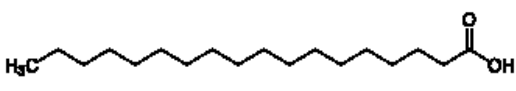
→ anders gefärbt: **Natrium cylamicum**

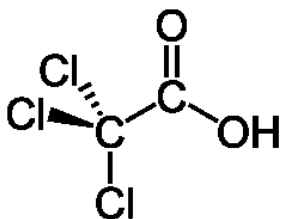
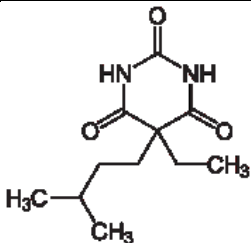
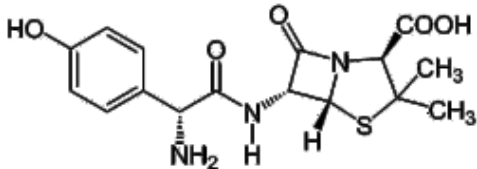
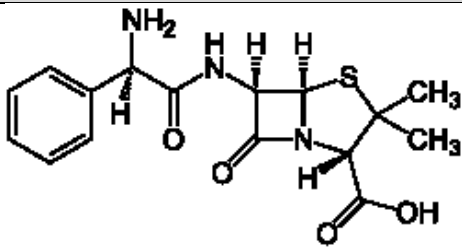
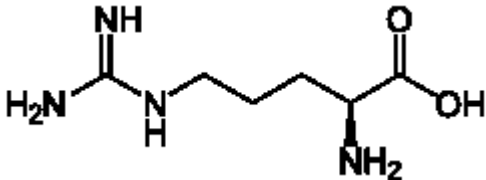
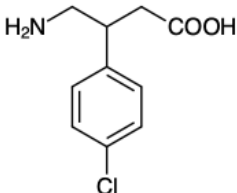
6. ANHANG

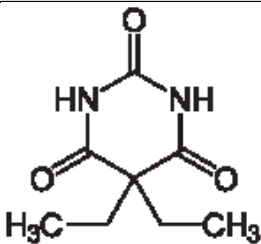
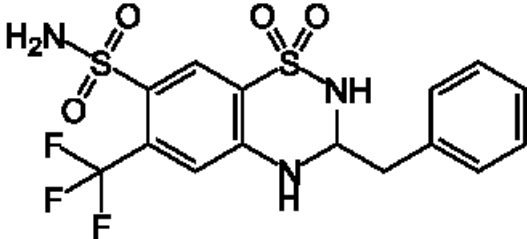
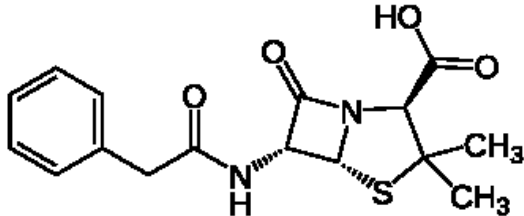
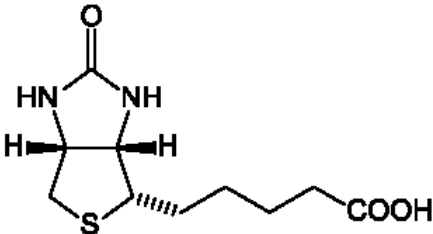
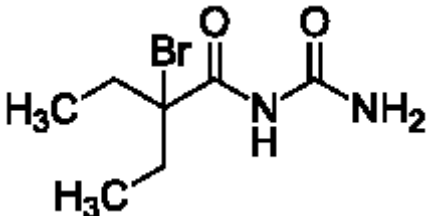
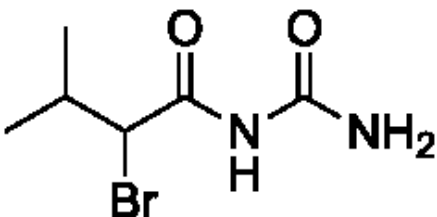
Hier werden nun nochmals alle untersuchten Substanzen alphabetisch angeführt, eine Struktur⁹ angezeigt und spezifische Reaktionen zur Schnellidentifikation aufgelistet.

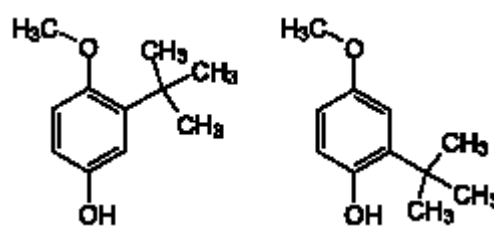
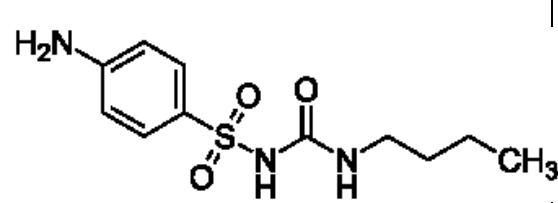
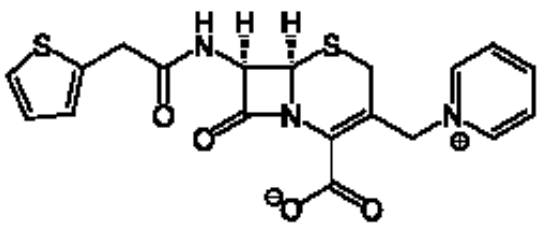
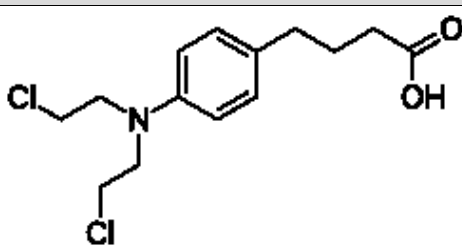
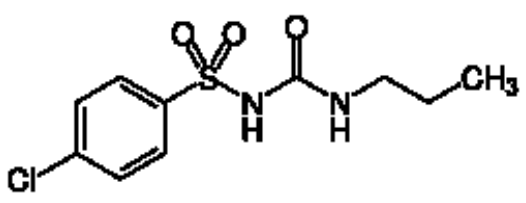
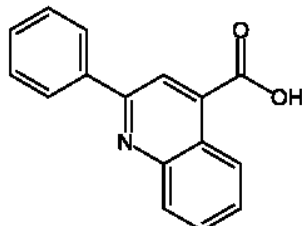
ACETYLMETHIONIN	
	* Substanz ist in Wasser leicht löslich * R 6: grüne Färbung
ACIDUM ACETYLSALICYLICUM	
	* R 2: violette Färbung
ACIDUM AGARINICUM	
	* 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml Wasser zum Sieden erhitzt. Die Substanz löst sich und schäumt stark beim Schütteln
ACIDUM p-AMINO BENZOICUM	
	* 3-5 mg Substanz werden mit 1 ml Reagenz (0,7 g Hg(II)chlorid und 0,5 g NaNO₂ in 10 ml H₂O gelöst) versetzt und 2-3 min. zum Sieden erhitzt: Lösung färbt sich rot * Substanz mit 1 ml Ether überschichtet, organische Phase färbt sich gelb
ACIDUM p-AMINOSALICYLICUM	
	* R 2: violett * DC: Fließmittel: Dichlormethan/Ameisensäure (9,5+0,5) Standard: Vanillin Rx-Bereich: 0,34 – 0,39

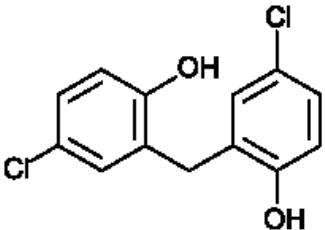
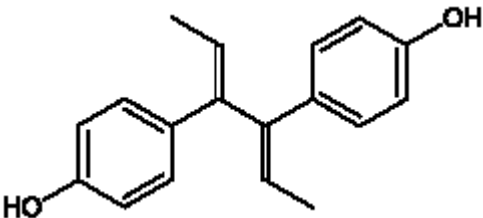
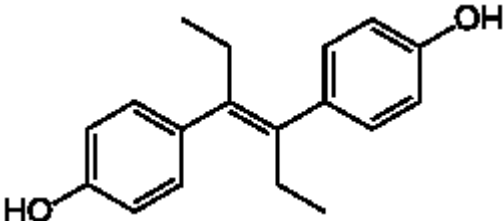
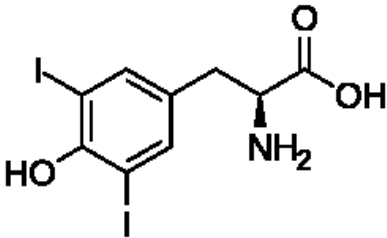
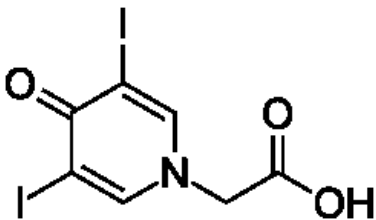
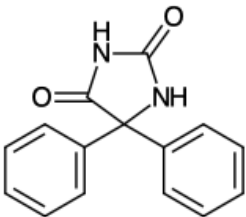
ACIDUM AMYGDALICUM	
	* R 2: zitronengelbe Färbung * R 3: gelb gefärbt, dann orange und braun
ACIDUM BENZOICUM	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Methanol/Diethylamin (14+2+0,5) <u>Standard</u>: Coffein <u>R_x-Bereich</u>: 0,98 – 1,04 * 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml H₂O zum Sieden erhitzt: Substanz löst sich nicht, bildet aber Tröpfchen auf Oberfläche
ACIDUM CAMPHORICUM	
	* R 3: 2 min am Wasserbad erhitzt: ergibt orangebraune Färbung
ACIDUM CHOLICUM	
	* 1-2 mg Substanz werden auf der Tüpfelplatte mit 2-3 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt und dann unter UV₃₆₆ betrachtet: die Lösung ist hellgelb gefärbt und fluoresziert blau
ACIDUM CYCLOHEXENYLETHYLBARBITURICUM	
	* R 11: violette Färbung * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Aceton (9+1) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,56 – 0,59
ACIDUM DEHYDROCHOLICUM	
	* 2-3 mg Substanz werden in 0,5 ml Ethanol gelöst bzw. suspendiert, mit ca. 5 mg 1,3-Dinitrobenzol und 4-5 Tropfen 2N Natriumhydroxydlösung versetzt: langsam violette Färbung

ACIDUM DIALLYLBARBITURICUM	
	* R 4: violette Färbung * DC: Fließmittel: Dichlormethan/Aceton (9+1) Standard: Ethosuximid Rx-Bereich: 0,89 – 0,932
ACIDUM ETACRYNICUM	
	* R 5: grüne Flamme * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Ethylacetat/Eisessig (5+4,5+0,5) <u>Standard</u>: Vanillin Rx-Bereich: 0,46 – 0,49
ACIDUM NICOTINICUM	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Methanol/Diethylamin (14+2+0,5) <u>Standard</u>: Benzoesäure <u>Rx-Bereich</u>: 0,67 – 0,75 * 2-3 mg Substanz und ca. 5 mg Zitronensäure werden mit ca. 1 ml Acetanhydrid versetzt, 5 min. bei 80°C erhitzt: rot bis violette Färbung
ACIDUM SALICYLICUM	
	* R 2: violette Färbung * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol (10+9,5+0,5) <u>Standard</u>: Vanillin <u>Rx-Bereich</u>: 0,83 – 0,85
ACIDUM SORBICUM	
	* R 3: 2 min am Wasserbad: Substanz färbt sich braun * Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure gibt man 5-10 mg Dimethylaminobenzaldehyd dazu und Schüttelt kräftig, anschließend fügt man 1 mg Substanz hinzu und wartet ca. 1 min: Lösung färbt sich orange
ACIDUM STEARICUM	
	* 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml Wasser versetzt und kurz zum Sieden gebracht: Substanz ist unlöslich, schmilzt aber zu Tröpfchen an der Wasseroberfläche * R 3: 2 min. am Wasserbad erhitzt: Substanz färbt sich orangebraun

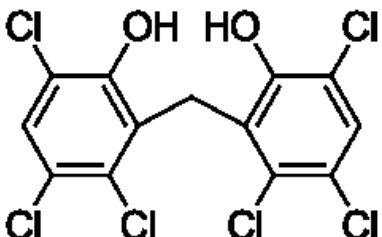
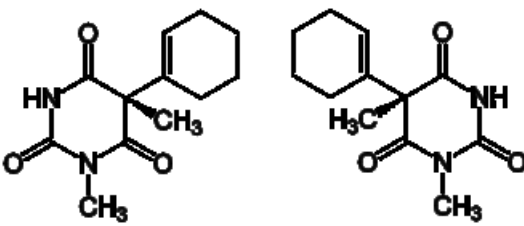
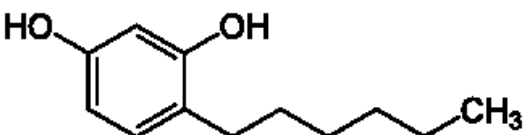
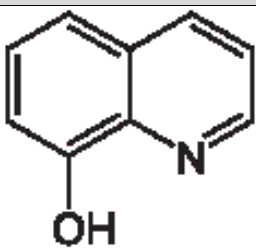
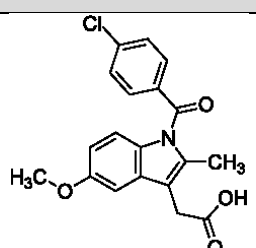
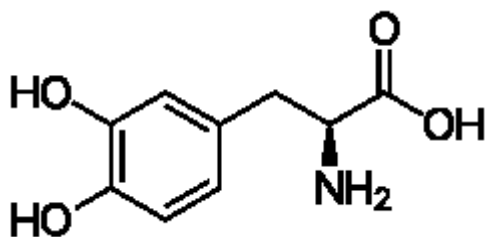
ACIDUM TRICHLORACETICUM	
	* R 5: grüne Flamme * 2-3 mg Substanz werden mit 5 Tropfen Pyridin und 5 Tropfen 20%iger NaOH-Lösung versetzt und 3-5 min. am Wasserbad erhitzt: Rotfärbung der Pyridinphase
AMOBARBITALUM	
	* R 4: violette Färbung * DC: <u>Fließmittel</u>: Ethylacetat/n-Butanol/NH₃ konz. (8+2+1) <u>Standard</u>: Paracetamol R_x-Bereich: 0,79-0,87
AMOXICILLINUM	
	* 1 mg Substanz werden mit 0,5 ml konz. Salpetersäure versetzt: gelbe Färbung
AMPICILLINUM ANHYDRICUM	
	* R 3: hellgelbe Färbung * 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml Wasser versetzt und kräftig geschüttelt: Schaumbildung
ARGININUM	
	* 2-3 mg Substanz werden mit ca. 5 mg Ninhydrin versetzt und anschließend 1-2 min. zum Sieden erhitzt: blaue Färbung
BACLOFENUM	
	* R 5: grüne Flamme * R 3: 2 min. am Wasserbad erhitzt: gelbstichige Färbung, grüne Fluoreszenz unter UV₃₆₆

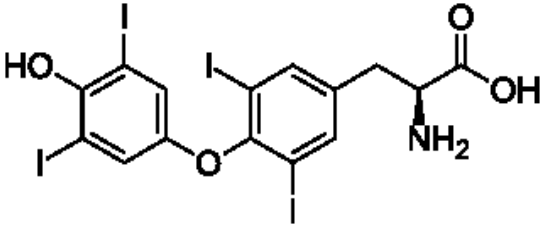
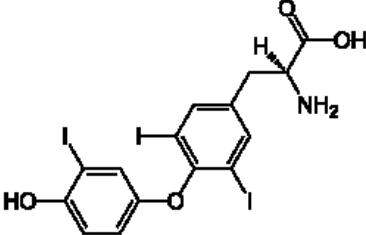
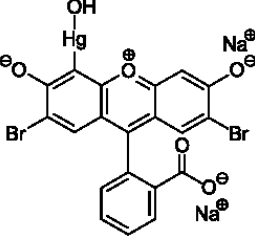
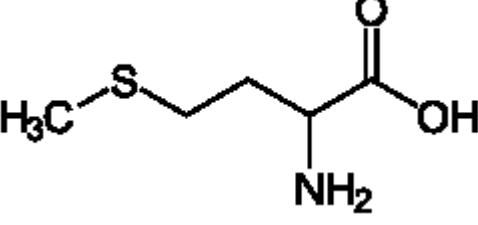
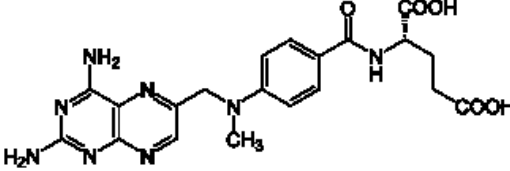
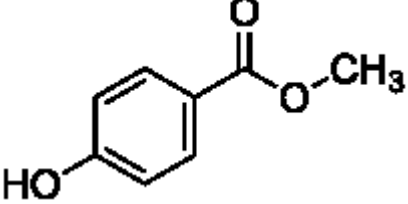
BARBITALUM	
	* R 4: violette Färbung * DC: <u>Fließmittel</u>: Ethylacetat/n-Butanol/NH₃ konz. (8+2+1) <u>Standard</u>: Paracetamol <u>Rx-Bereich</u>: 0,54-0,62
BENDROFLUMETHIAZIDUM	
	* R 3: dunkelviolette Färbung
BENZYLPENICILLINUM	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Methanol (9+1) <u>Standard</u>: Coffein <u>Rx-Bereich</u>: 0,17-0,21
BIOTINUM	
	* R 1: grüne Färbung
BROMDIETHYLACETYL CARBAMIDUM	
	* R 5: grüne Flamme * R 1: grüne Färbung *DC: <u>Fließmittel</u>: Toluol/Methanol (8+2) <u>Standard</u>: Coffein <u>Rx-Bereich</u>: 1,12-1,16
BROMISOVALERIANYL CARBAMIDUM	
	* R 5: grüne Flamme * DC: <u>Fließmittel</u>: Toluol/Methanol (8+2) <u>Standard</u>: Coffein <u>Rx-Bereich</u>: 0,98-1,04

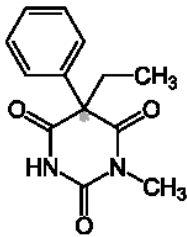
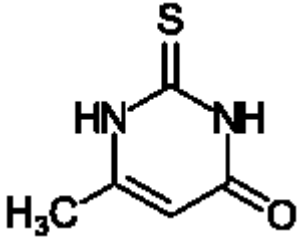
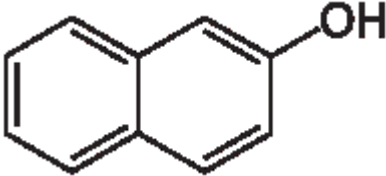
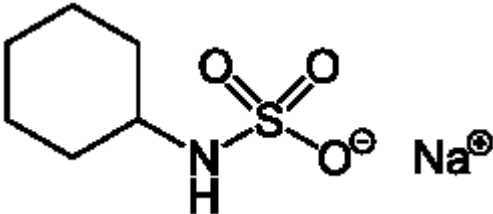
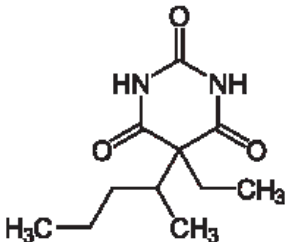
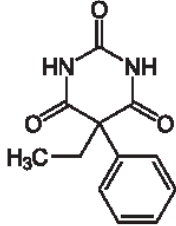
BUTHYLHYDROXYANISOLUM	
	* zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure werden 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt, nach dem Schütteln wird ca. 1 mg Substanz zugesetzt: Farbänderung von blaugrau → grau → braun * 1 mg Substanz werden mit 0,5 ml konz. Salpetersäure auf der Tüpfelplatte versetzt: rote Färbung
CARBUTAMID	
	* 3-5 mg Substanz werden mit 1 ml Reagenz (0,7 g Hg(II)chlorid und 0,5 g Natriumnitrit werden in 10 ml Wasser gelöst) versetzt und 2-3 min. zum Sieden erhitzt: Lösung orange gefärbt
CEFALORIDINUM	
	* R 3: rotbraun * 1 mg Substanz werden mit 0,5 ml konz. Salpetersäure auf der Tüpfelplatte versetzt: rote Färbung * In eine Mischung aus 0,5-1 ml konz. Salpetersäure und 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure wird ca. 1 mg Substanz eingebracht: zart grün bis blaugüne Färbung
CHLORAMBUCILUM	
	* R 5: grüne Flamme * R 6: gelboranger Niederschlag
CHLORPROPAMIDUM	
	* R 5: grüne Flamme
CINCHOPHENUM	
	* R 3: hellgelb * 2-3 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit 1 Tropfen konz. Salzsäure und 1 Tropfen Jod-Lösung (0,2 g Jod und 0,4 g Kaliumjodid werden in 1-2 ml Wasser gelöst und zu 10 ml verdünnt) versetzt: Braune bis schwarze Abscheidung

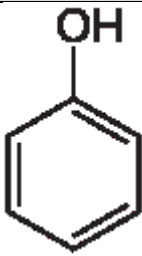
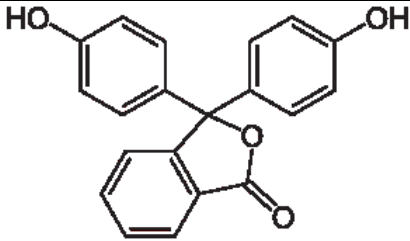
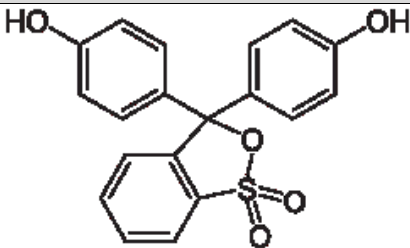
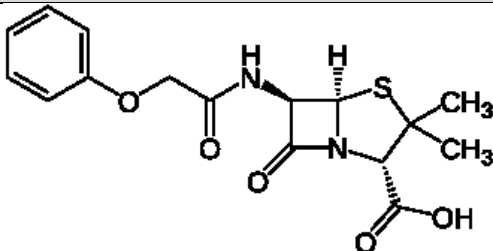
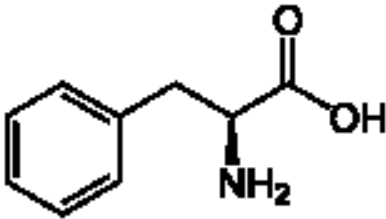
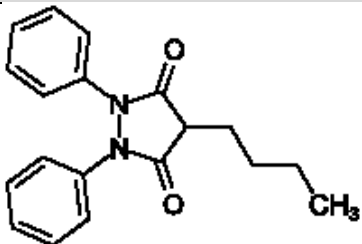
DICHLOROPHENUM	
	* R 5: grüne Flamme * 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml konz. Salpeter versetzt: Lösung färbt sich nach 2-3 min. gelb
DIENESTROLUM	
	* R 3: rotbraun * Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure werden 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt, danach wird geschüttelt und ca. 1 mg Substanz zugesetzt, danach wird mit 2-3 ml Wasser tropfenweise aufgefüllt: Farbänderung von dunkelblau nach kornblumenblau
DIETHYLSTILBESTROLUM	
	* 1 mg Substanz wird mit 0,5-1 ml konz. Salpetersäure auf einer Tüpfelplatte versetzt: rote Färbung * Zu ca. 1 ml konz. Schwefelsäure werden 5-10 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd zugesetzt, schütteln und ca. 1 mg Substanz zusetzen, 1 min. warten und dann tropfenweise 2-3 ml H₂O dazu: von dunkelblau → kornblumenblau
DIJODYTOSINUM	
	* R 5: grüne Flamme * 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und vorsichtig erhitzt, dann rasch wieder abgekühlt und dann mit 0,5 ml Chloroform überschichtet und geschüttelt: organische Phase färbt sich violett
DIODONUM	
	* R 5: grüne Flamme * 2-3 mg Substanz werden mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure versetzt und vorsichtig erhitzt, dann rasch wieder abgekühlt und dann mit 0,5 ml Chloroform überschichtet und geschüttelt: organische Phase färbt sich violett
DIPHENYLHYDANTOINUM	
	* R 4: hellviolett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Aceton (9+1) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,38-0,43

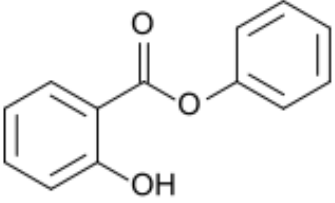
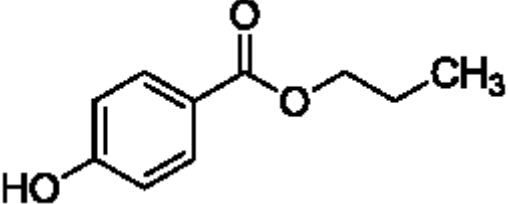
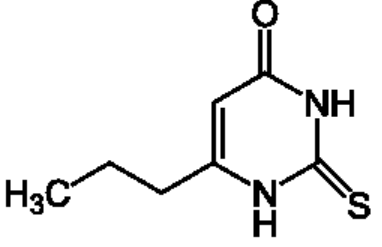
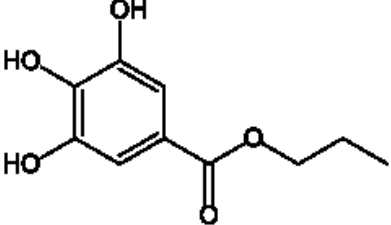
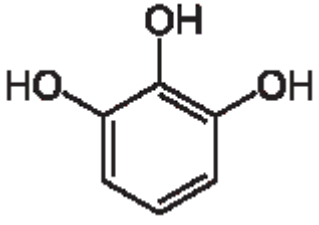
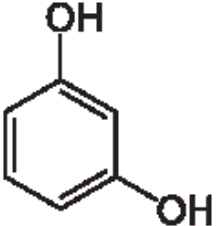
DITRANOLUM	
	* R 3: orange * 2-3 mg Substanz werden mit 0,5 ml 2N Natronlauge versetzt: Farbänderung von gelb → orange → rot
ETHOSUXIMID	
	* R 4: hellviolett
ETHYL-4-HYDROXYBENZOAT	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Methanol (9+1) <u>Standard</u>: Coffein <u>R_x-Bereich</u>: 1,19-1,27
FLUORESCEINUM	
	* Substanz ist rot gefärbt * Substanz wird mit 1 ml 2 N Natronlauge versetzt: orange Färbung, fluoresziert unter UV₃₆₆ grün
GLIBENCLAMIDUM	
	* R 5: grüne Flamme * 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und unter UV₃₆₆ betrachtet: fluoresziert violett
GUAJACOLUM	
	* R 2: rotorange * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol (10+9,5+0,5) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 1,09-1,13

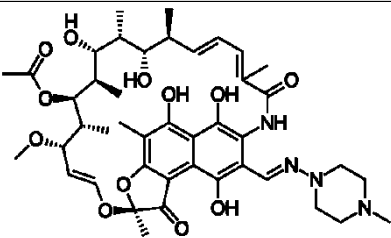
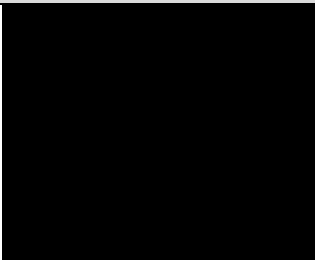
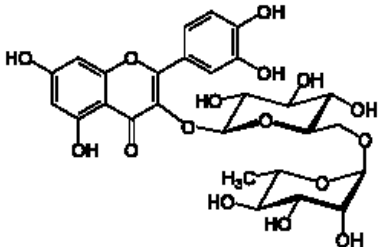
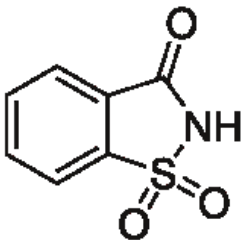
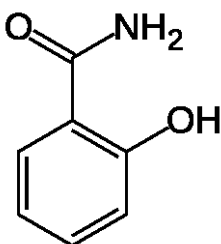
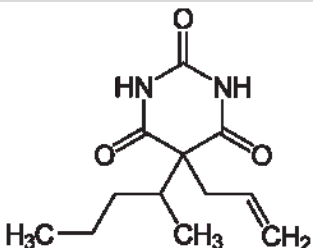
HEXACHLOROPHENUM	
	* R 5: grüne Flamme * Zu 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure werden ca. 5 mg Natriumnitrit zugesetzt: rosa Färbung, die aber verblasst
HEXOBARBITALUM	
	* R 4: violett * DC: Fließmittel: Dichlormethan/Aceton (9+1) Standard: Vanillin R_x-Bereich: 0,81-0,88
HEXYLRESORCINOLUM	
	* R 3: gelborange * 2-3 mg Substanz werden in 0,5-1 ml Wasser gelöst bzw. suspendiert und mit ca. 5 mg 2,6-Dichlorchinonimid (Gibbs Reagenz) und 1-2 Tropfen 2N Natronlauge versetzt: violette Färbung
HYDROXYCHINOLINUM	
	* R 2: dunkelgrün
INDOMETACINUM	
	* R 5: grüne Flamme * DC: Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat/Eisessig (5+4,5+0,5) Standard: Vanillin R_x-Bereich: 0,86-0,92
LEVODOPUM	
	* R 2: dunkelgrün * 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml Wasser und 2 Tropfen 2M Natriumhydroxy-Lösung versetzt: Färbung kurz grün, dann braun

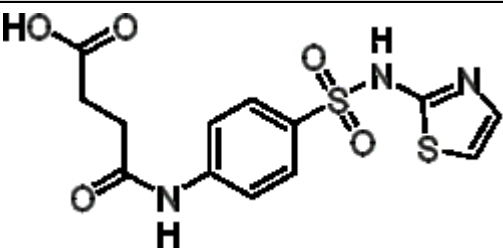
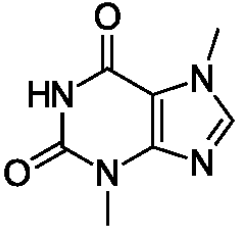
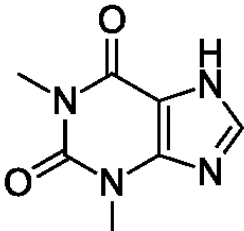
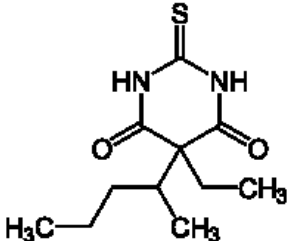
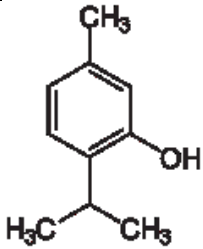
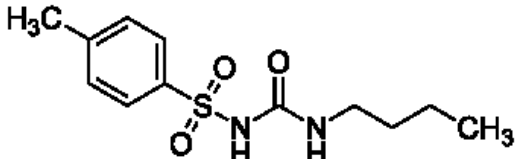
LEVOTHYROXINUM	
	* R 5: grüne Flamme * DC: <u>Fließmittel:</u> Essigsäure/Toluol (3+2) <u>Standard:</u> Coffein <u>R_x-Bereich:</u> 0,96-1,04
LIOTHYONINUM	
	* R 5: grüne Flamme * DC: <u>Fließmittel:</u> Essigsäure/Toluol (3+2) <u>Standard:</u> Coffein <u>R_x-Bereich:</u> 0,75-0,83
MERBROMINUM	
	* Substanz ist metallisch grün-schwarz gefärbt * 1-2 mg Substanz werden mit 1 ml Wasser versetzt: Lösung färbt sich intensiv rot
D,L-METHIONINUM	
	* 2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml Wasser und ca. 5 mg Ninhydrin versetzt, 1-2 min. zum Sieden erhitzt: Färbung blau * 1 mg Substanz wird auf der Tüpfelplatte mit 0,5 ml konz. Salpetersäure versetzt: Färbung rot
METHOTREXATUM	
	* Substanz ist intensiv orange gefärbt * R 5: grüne Flamme * 2-3 mg Substanz werden mit 1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und unter UV₃₆₆ betrachtet: Lösung ist gelb und ergibt eine grüne Fluoreszenz
METHYLIS PARAHYDROXYBENZOAS	
	* DC: <u>Fließmittel:</u> Toluol/Methanol/Eisessig (8+1+1) <u>Standard:</u> Coffein <u>R_x-Bereich:</u> 1,17-1,24

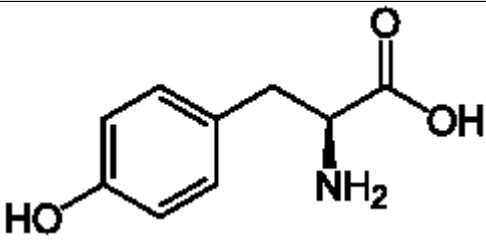
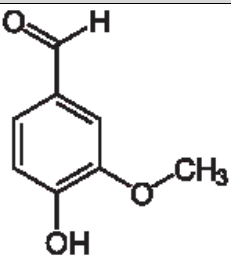
METHYLPHENOBARBITALUM	
	* R 4: violett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Aceton (9+1) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 1,00-1,05
METHYLTHIOURACILUM	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Ethylacetat <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,65-0,72
β-NAPHTHOLUM	
	* R 4: violett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan <u>Standard</u>: Thymol (1%ig in Methanol) <u>R_x-Bereich</u>: 0,47-0,54
NATRIUMCYCLAMICUM	
	Kein NW vorhanden, Identifikation nach dem Ausschlussverfahren im Analysengang
PENTOBARBITALUM	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Aceton (9+1) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,70-0,73
PHENOBARBITALUM	
	* R 4: violett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Aceton (9+1) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,55-0,61

PHENOLUM	
	* R 2: hellviolett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Ameisensäure (8,5+0,5) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 1,09-1,12
PHENOLPHTHALEIN	
	* R 3: orange - rot
PHENOLSULFONPHTHALEINUM	
	* Substanz ist intensiv rot gefärbt * 1-2 mg Substanz werden in 0,5 ml konz. Salpetersäure eingetragen: Lösung färbt sich pink
PHENOXYMETHYLPENICILLINUM	
	* R 3: dunkelrot * R 1: grün
PHENYLALANIN	
	* R 3: orange bis braun * 2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml Wasser und ca. 5 mg Ninhydrin versetzt, 1-2 min. zum Sieden erhitzt: Lösung färbt sich blau
PHENYLBUTAZONUM	
	* R 1: grün * R 3: 2 min am Wasserbad erhitzt: orange

PHENYLUM SALICYLICUM	
	* R 3: dunkelrot * DC: <u>Fließmittel:</u> Dichlormethan <u>Standard:</u> Thymol (1%ig in Methanol) <u>R_x-Bereich:</u> 1,43-1,52
PROPYLIS PARAHYDROXYBENZOAS	
	* R 3: 2 min am Wasserbad erhitzt: gelbbraun * DC: <u>Fließmittel:</u> Toluol/Methanol/Eisessig (8+1+1) <u>Standard:</u> Coffein <u>R_x-Bereich:</u> 1,23-1,32
PROPYLTHIOURACILUM	
	* DC: <u>Fließmittel:</u> Ethylacetat <u>Standard:</u> Vanillin <u>R_x-Bereich:</u> 0,88-0,95
PROPYLLUM GALLICUM	
	* R 2: violett-schwarz * 1 mg Substanz wird mit 0,5-1 ml 2N Natronlauge versetzt und ergibt innerhalb von 30 sec. eine Gelbfärbung
PYROGALLOLUM	
	* R 2: rotbraun * DC: <u>Fließmittel:</u> Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol (10+9,5+0,5) <u>Standard:</u> Vanillin <u>R_x-Bereich:</u> 0,78-0,82
RESORCINOLUM	
	* R 2: hellviolett * 1 mg Substanz wird mit 0,5-1 ml 2N Natronlauge versetzt und ergibt innerhalb von 30 sec. eine Rosafärbung

RIFAMPICINUM	
	* Substanz ist rot gefärbt * R 2: dunkelbraun * 1-2 mg Substanz werden mit ca. 0,5 ml 2N Natronlauge versetzt: orangerote Färbung (Rifamycin : negativ!)
RIFAMYCINUM	
	* Substanz ist rot gefärbt * R 2: zitronengelb * In einer Epruvette werden zu 0,5-1 ml konz. Schwefelsäure ca. 1 mg Substanz zugesetzt: Lösung orange bis hellrote Färbung
RUTINUM	
	* R 3: orangegelb * 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml 2M Natronlauge versetzt und geschüttelt: orangegelbe Färbung
SACCHARINUM	
	* DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Methanol/Diethylamin (14+2+0,5) <u>Standard</u>: Benzoesäure <u>R_x-Bereich</u>: 1,12-1,20
SALICYLAMIDUM	
	* R 2: violett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Ameisensäure (9,5+0,5) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,46-0,49
SECOBARBITALUM	
	* R 4: violett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Aceton (9+1) <u>Standard</u>: Ethosuximid <u>R_x-Bereich</u>: 1,02-1,06

SUCCINYLSULFATHIAZOLUM	
	* DC: <u>Fließmittel:</u> Dichlormethan/Methanol/Diethylamin (14+2+0,5) <u>Standard:</u> Benzoesäure <u>R_x-Bereich:</u> 0,16-0,21
THEOBROMINUM	
	* R 7: violett * DC: <u>Fließmittel:</u> Ethylacetat/Methanol/konz. NH₃ (8+1+1) <u>Standard:</u> Coffein <u>R_x-Bereich:</u> 0,58-0,65
THEOPHYLLINUM	
	* R 7: violett * DC: <u>Fließmittel:</u> Ethylacetat/Methanol/konz. NH₃ (8+1+1) <u>Standard:</u> Coffein <u>R_x-Bereich:</u> 0,16-0,21
THIOPENTALUM	
	* 2-3 mg Substanz werden mit 0,5-1 ml Wasser und 2-3 Tropfen 0,1M Silbernitrat-Lösung versetzt und 1 min. zum Sieden erhitzt: weiße Trübung oder Niederschlag * DC: <u>Fließmittel:</u> Ethylacetat <u>Standard:</u> Vanillin <u>R_x-Bereich:</u> 1,08-1,11
THYMOLUM	
	* R 3: gelbbraun * DC: <u>Fließmittel:</u> Dichlormethan <u>Standard:</u> Thymol (1%ig in Methanol) <u>R_x-Bereich:</u> 0,93-1,00
TOLBUTAMIDUM	
	* nicht löslich in Wasser, auch nicht in der Siedehitze * mit 0,5 ml konz. Salpetersäure auf der Tüpfelplatte: orange - rotbraun

TYROSINUM	
	* R 3: grünbraun * 2-3 mg Substanz werden mit ca. 1 ml Wasser und ca. 5 mg Ninhydrin versetzt, 1-2 min. zum Sieden erhitzt: blaue Färbung
VANILLINUM	
	* R 2: hellviolett * DC: <u>Fließmittel</u>: Dichlormethan/Ameisensäure (8,5+0,5) <u>Standard</u>: Vanillin <u>R_x-Bereich</u>: 0,97-1,01

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
DC	Dünnschichtchromatographie
konz.	konzentriert(e)
Lit.	Literatur (Quellenangabe)
NW	Nachweis
R _x	Retentionswert
sec.	Sekunde
vgl.	vergleiche

8. Literaturverzeichnis

- Lit. 1 Karl Winterfeld, Organisch-Chemische Arzneimittelanalyse, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin
- Lit. 2 R. Klaus Müller, Die toxikologisch-chemische Analyse, Georg Thieme Verlag
- Lit. 3 H. Auterhoff und K.-A. Kovar, Identifizierung von Arzneistoffen, 5. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
- Lit. 4 G. Heinisch und H. Kopelent-Frank, Identifizierung offizineller Arzneistoffe, Facultas Universitätsverlag
- Lit. 5 Europäischen Arzneibuch, 11. Ausgabe (2023) inkl. 7. Nachtrag
- Lit. 6 M. Weiß, Diplomarbeit, Universität Wien, 1996
- Lit. 7 V. Putz, Diplomarbeit, Universität Wien, 1997
- Lit. 8 P. Behensky, Diplomarbeit, Universität Wien, 1997
- Lit. 9 Quelle der Strukturformeln: www.pharmawiki.ch

www.wikipedia.de

