

Bethanecol and carbachol, carbamates which lack N-substituents, react with the furfural-hydrochloric acid spray, but they have zero R_F values in all the systems included in this study. The compounds may be separated in a system reported by TAYLOR⁷.

Acknowledgement

The author wishes to thank Mr. JEAN-DENIS LANTHIER for technical assistance.

Research Laboratories, Food and Drug Directorate,
Tunney's Pasture, Ottawa, Ontario (Canada)

T. W. McCONNELL DAVIS

- 1 M. S. MOSS AND J. V. JACKSON, *J. Pharm. Pharmacol.*, 13 (1961) 361.
- 2 J. F. DOUGLAS AND A. SCHLOSSER, *J. Chromatog.*, 6 (1961) 540.
- 3 I. SUNSHINE, *Am. J. Clin. Pathol.*, 40 (1963) 576.
- 4 R. LINDFORS, *Ann. Med. Exptl. Biol. Fenniae (Helsinki)*, 41 (1963) 355.
- 5 A. HEYNDRIKX, M. SCHAUVLIEGE AND A. BLOMME, *J. Pharm. Belg.*, 20 (1965) 117.
- 6 M. C. NIGAM, I. C. NIGAM AND L. LEVI, *J. Soc. Cosmetic Chemists*, 16 (1965) 155.
- 7 E. H. TAYLOR, *Lloydia*, 27 (1964) 96.

Received December 15th, 1966

J. Chromatog., 29 (1967) 283-287

Zur Standardisierung der Dünnschichtchromatographie

II. Die R_F -Werte eines spezifischen Nachweises für Phenacetin und chemisch verwandte Verbindungen

In einer vorausgegangenen Untersuchung¹ wurden für die Dünnschichtchromatographie (DC) in tubes folgende Vorteile gegenüber den üblichen Methoden festgestellt: (1) durch die exakte Einstellbarkeit des Wassergehaltes der Kieselgelschicht sind die R_F -Werte besser als mit bisher üblichen Methoden reproduzierbar; (2) die beschichteten inaktiven tubes ermöglichen, bei verschiedenen Temperaturen aktiviert, die Auswahl der jeweils günstigen Trennungsbedingungen; (3) die standardisierten Bedingungen erlauben den direkten Vergleich der Ergebnisse mit denen anderer Untersuchungen.

Diese Untersuchungen wurden fortgesetzt. Dabei wurde eine bisher anscheinend unbekannte Reaktion von Phenacetin gefunden. Die bisher übliche Nachweismethode mit Salpetersäure² ist ziemlich unspezifisch, da ganze Stoffgruppen gelbe Nitrierungsprodukte ergeben können. Auch der Nachweis mittels des Eisen(III)chlorid-Kaliumhexacyanoferrat(III)-Reagenzes³ kann nicht als spezifisch angesehen werden. Die Spezifität der Phenacetin-Nachweismethode wurde an 18 Substanzen geprüft, gleichzeitig wurde die Reproduzierbarkeit der R_F -Werte der Tube-DC mit der Plattenmethode bei Anwendung von zwei Kammern (KS und S) verglichen.

J. Chromatog., 29 (1967) 287-292

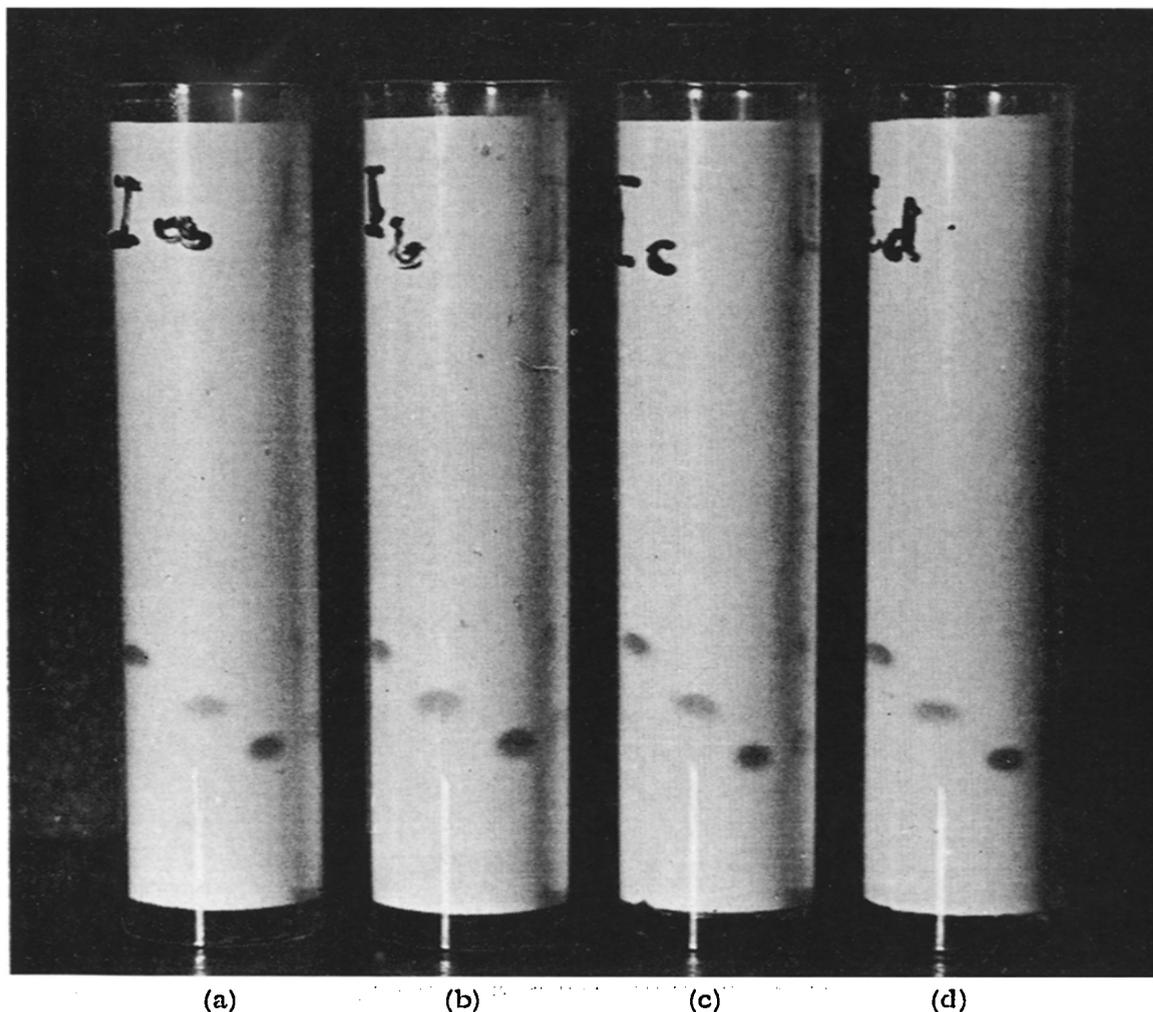


Fig. 1. Zur Demonstration der tube-DC. Von links nach rechts: *o,m,p*-Anisidin. Bedingungen: Kieselgel G bei 30° aktiviert. Laufmittel: gereinigtes Chloroform Merck p.A., Nachweis mit Bromdämpfen, nach Verdampfung 2 Min. auf 120° erhitzt.

Methode

Die Tube-DC¹ (DESAGA) beruht auf der Verwendung von innen mit Silicagel beschichteten Glasröhrchen (tubes), die gleichzeitig als Trennkammer dienen und an beiden Enden mit Gummikappen verschlossen werden können. Dadurch ist eine Standardisierung sowohl der Schichtaktivität als auch der Kammersättigung gewährleistet. Die tubes wurden auf Vorrat gehalten und vor Gebrauch in Aluminium-Wärmespeichern* im Trockenschrank 4–5 Std. auf 30° belassen. Sofort nach der Herausnahme wurden sie verschlossen, dann auf je vier die in Tabelle I angegebenen Substanzen in zwei Gruppen mit einer 2 mm³ fassenden Mikrokapillare* aufgetragen. Unmittelbar danach wurde das tube wieder verschlossen. Als Laufmittel wurde Chloroform Merck p.A. verwendet. Dieses wurde vorher im Verhältnis 2:1 mit Aqua dest. ausgeschüttelt und über Silicagel H Merck 5 % getrocknet. Die tubes wurden, im Kaltluftstrom getrocknet, 2 Min. in einem speziellen Bedampfungsgerät* Bromdämpfen ausgesetzt. Der überschüssige Bromdampf wurde ausgetrieben, die tubes anschliessend 2 Min. auf einem Warmluftgerät auf 110° erwärmt.

* DC-Tubes sowie Zubehör sind erhältlich bei DESAGA, Heidelberg.

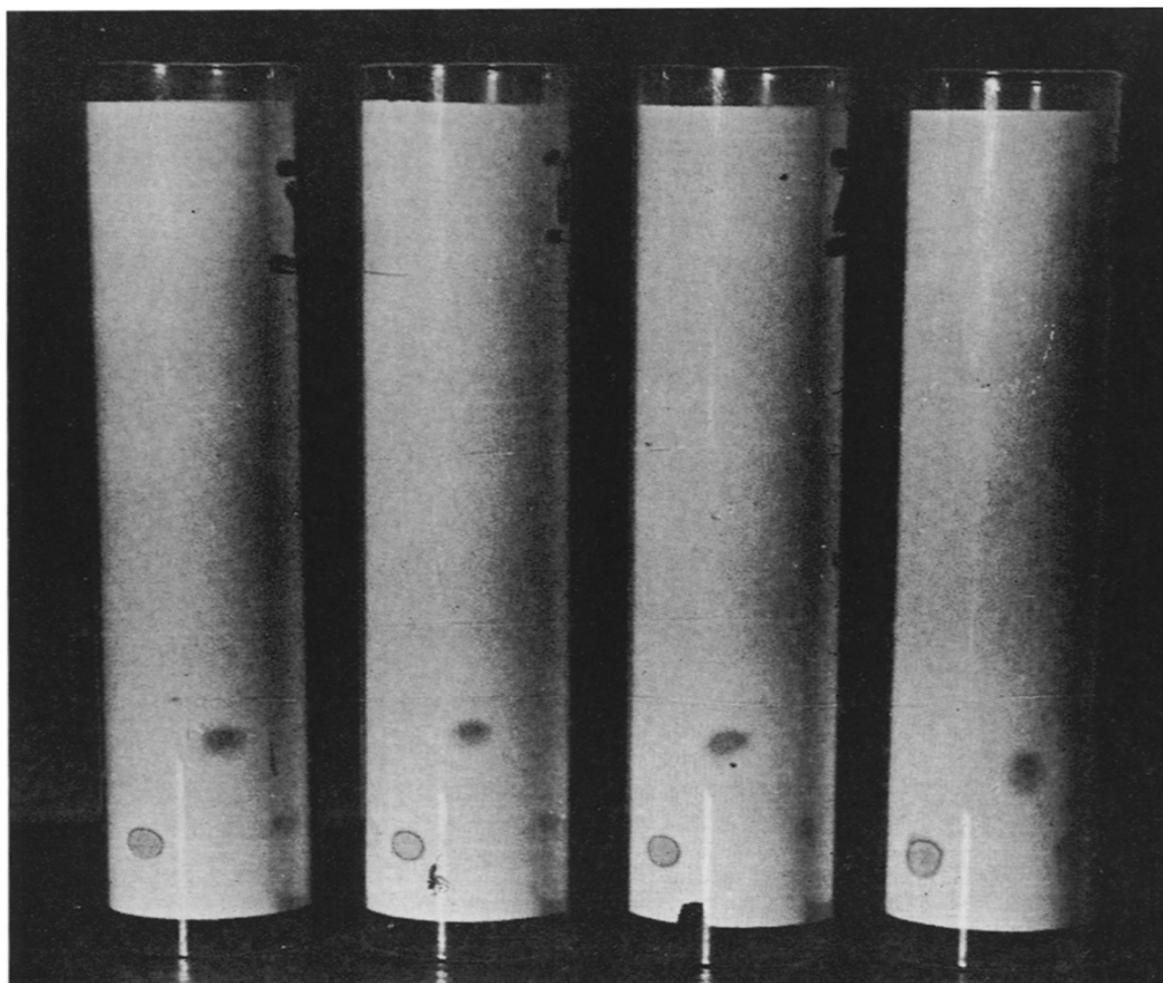


Fig. 2. Von links nach rechts: *p*-Aminophenol, *p*-Phenetidin, Phenacetin. Bedingungen wie Fig. 1.

Die mit dieser Methode zu erreichenden Ergebnisse sind aus Tabelle I sowie Fig. 1 und 2 zu ersehen. Zur Platten-DC wurden die mit Silicagel G beschichteten Platten bei 30° im Trockenschrank aktiviert und je fünf in einer Kammer (KS und S) entwickelt. Die Lösungen enthielten jeweils 2 mg Substanz pro cm³. Die Ergebnisse sind aus Tabelle II und Fig. 3 und 4 zu ersehen.

Der Vergleich der Ergebnisse zwischen der Tubemethode und den unter gleichartigen Bedingungen ausgeführten Plattenmethode ergibt eine bedeutend breitere Differenzweite der R_F -Werte in den tubes. Die bessere Trenn- und Unterscheidbarkeit der untersuchten Substanzen in den tubes ist eindeutig. Dabei sind Schwankungen der entsprechenden R_F -Werte festzustellen. Während bei der Platten-Methode sechs Substanzen nicht oder kaum wandern, sind es in den tubes nur zwei. Die R_F -Werte von *p*-Anisidin und *o*-Acetanisidin sind auf der Platte nicht zu unterscheiden. Auch die Form der peaks ist auf den Platten ungünstiger als in den tubes. Acetanilid, Acetoluidid, Anisol und Phenetol sind auf den Platten, im Gegensatz zu den tubes, überhaupt nicht sichtbar. Wie aus Tabelle I ersichtlich, gibt Phenacetin nach der oben angeführten Methode eine violette Farbreaktion in der Hitze. Ein Farbumschlag von violett nach grau-braun erfolgt erst nach einigen Stunden. Die Reaktion tritt nicht auf

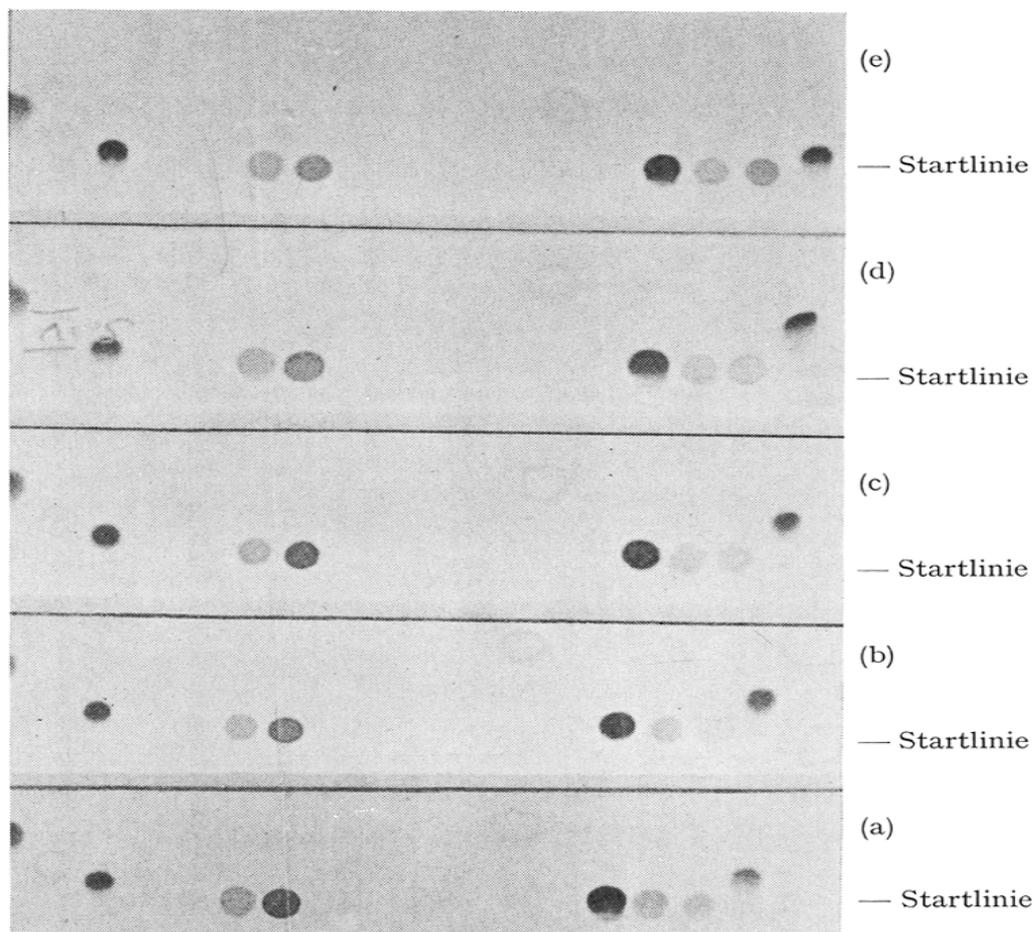


Fig. 3. Tube-DC verglichen mit Plattenmethode unter Kammer-sättigung. Bedingungen wie Fig. 1

TABELLE I

DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHIE IN TUBES: PHENACETIN-NACHWEIS

Erläuterungen zu den Farben: br = braun; dbr = dunkelbraun; hbr = hellbraun; rbr = rotbraun; vbr = violett-braun; g = grau; bl = blau; bls = blau-schwarz; blv = blau-violett; or = orange; v = violett.

		<i>Bromiert</i>		<i>R_F-Werte</i>				
		<i>Kalt</i>	<i>Heiss</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	
I	1	<i>o</i> -Anisidin	rbr	dbr	28	28	29	28
	2	<i>m</i> -Anisidin	vbr	br	20	21	21	20
	3	<i>p</i> -Anisidin	bl	blv	15	15	14	14
	4	<i>o</i> -Acetanisidin	g	hbr	18	18	17	17
	5	<i>p</i> -Acetanisidin	g	v	3	4	4	4
	6	<i>o</i> -Acetaminophenol	g	br	4	4	4	4
	7	<i>p</i> -Essigsäureester	g	v	0	0	0	0
	8	Acetanilid	(g)	(g)	9	9	8	8
	9	Acetoluidid	(g)	(g)	11	11	12	12
II	10	Anisol	or	or	78	79	—	—
	11	Phenetol	or	or	80	82	—	—
	12	Anilin	dbr	rbr	28	29	27	28
	13	Phenol	g	g	20	21	21	21
	14	<i>o</i> -Aminophenol	g	dbr	3	4	3	4
	15	<i>m</i> -Aminophenol	g	g	2	3	3	2
	16	<i>p</i> -Aminophenol	g	v	0	0	0	0
	17	<i>p</i> -Phenetidin	bl	bls	19	18	15	17
	18	Phenacetin	g	v	5	5	3	4

TABELLE II

DC MIT ÜBLICHER KAMMER
Bedingungen wie in Tabelle I.

	<i>R_F</i> -Werte				
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>
<i>(A) Kammersättigung: Eckige Trennkammer</i>					
1	25	24	21	23	20
2	14	13	10	11	10
3	9	8	6	7	6
4	8	8	6	5	4
5	2	2	0	0	1
6	3	3	1	2	2
7	2	2	0	0	1
8	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—
12	27	26	26	24	23
13	23	21	22	20	18
14	2	3	2	3	3
15	1	2	1	2	2
16	1	2	1	2	1
17	8	13	12	10	7
18	4	12	13	9	2
<i>(B) Sandwich-Trennkammer</i>					
1	19	18	19	17	16
2	10	10	9	8	8
3	6	5	6	4	4
4	6	5	5	5	4
5	0	0	1	0	0
6	1	1	2	1	1
7	1	0	1	0	1
8	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—
12	22	23	21	23	17
13	19	18	17	17	16
14	2	2	2	2	2
15	1	1	1	1	1
16	1	1	1	1	1
17	9	10	12	13	6
18	1	1	2	2	1

Papier oder im Reagenzglas auf. Wieweit die Reaktion durch Silicagel katalysiert zu werden scheint, müsste geprüft werden. *p*-Anisidin und *p*-Phenetidin ergeben eine Blaufärbung schon in der Kälte. Nur in der Hitze gibt ausser dem Phenacetin noch *p*-Acetanisidin, *p*-Aminophenol und *p*-Acetamino-phenolessigester die violette

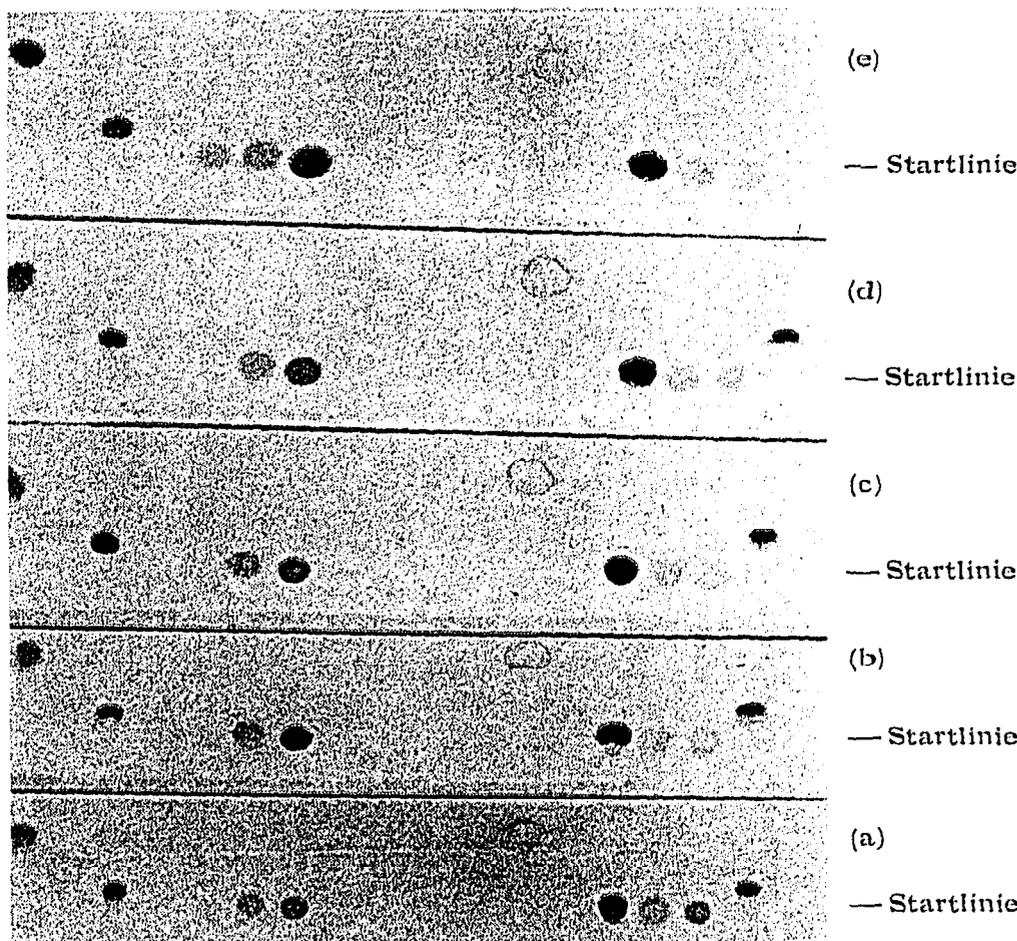


Fig. 4. Tube-DC verglichen mit Plattenmethode: Sandwich-Kammer. Bedingungen wie Fig. 1.

Farbreaktion. Die beiden letztgenannten Substanzen bleiben jedoch am Startpunkt und lassen sich dadurch von den beiden anderen Verbindungen unterscheiden. Keine Reaktion ergeben Acetanilid und Acetoluidid. Nach den bisherigen Beobachtungen scheint die Reaktion mit der Konfiguration des *p*-Aminophenol zusammenzuhängen.

Abteilung Verkehrsmedizin,*
 Institut für gerichtliche Medizin
 der Universität Heidelberg (Deutschland)

P. POGACAR
 B. KIENLE
 P. KRAPP
 KL. LÜHRSEN

- 1 P. POGACAR UND H. KLEIN, *Deut. Z. Ges. Gerichtl. Med.*, 60 (1967) im Druck.
 2 H. LIEBICH, *Deut. Apotheker Ztg.*, 99 (1959) 1246.
 3 R. BRAVO O. UND F. HERNÁNDEZ A., *J. Chromatog.*, 7 (1962) 60.

Eingegangen den 25. Januar 1967

* Leiter: Prof. Dr. H. KLEIN.