

CHROM. 3751

Sorptionsbedingte Fehlerquellen bei der DC-Fluorometrie fluoreszenzmindernder Substanzen (Aminophenazon, Phenyl dimethylpyrazolon, *p*-Hydroxybenzoesäureester, Triamcinolonacetonid)

Die quantitative Bestimmung von Arzneistoffen in pharmazeutischen Zubereitungen ist ohne ihre analytische Isolierung in den meisten Fällen nicht durchführbar. Mehrere Autoren berichten über zeitlich aufwendige Trennungen der Be-

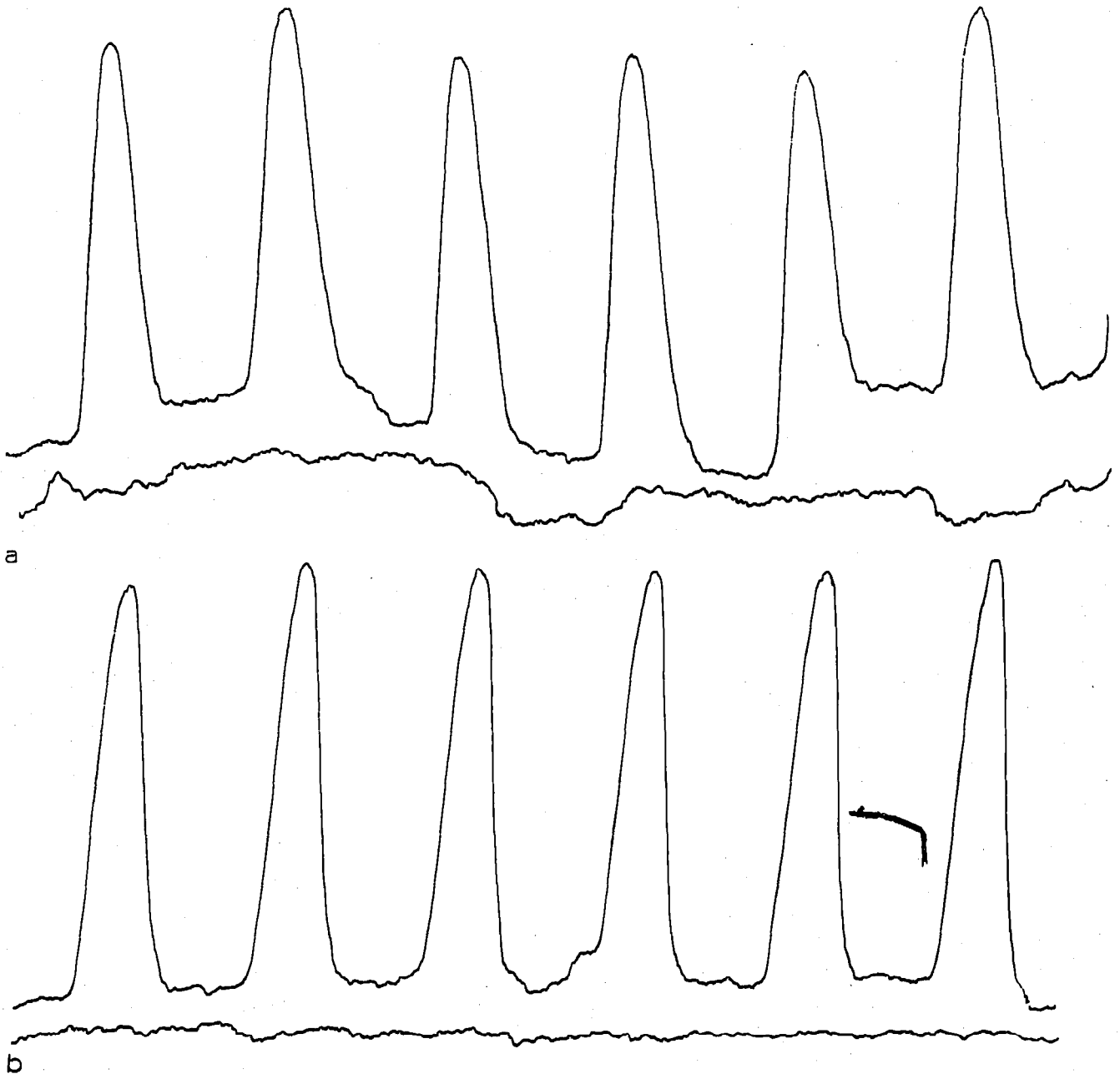


Fig. 1. Registrierte Peaks gleicher Mengen Aminophenazon (je 6 μg) auf einer für quantitative Bestimmungen ungeeigneten (a) und einer brauchbaren (b) DC-Fertigplatte mit Blindmessungen des Plattenuntergrundes.

standteile von Antipyretica und Analgetica¹⁻³. Meist ist hier nicht auf chromatographische Methoden zu verzichten. Die eigentlichen Bestimmungen werden anschliessend in der Regel titrimetrisch oder photometrisch durchgeführt. BRODE⁴ wies bei der Bearbeitung und Untersuchung Fluocinolonacetonid-haltiger Zubereitungen auf Schwierigkeiten hin und betonte, dass die klassischen Verfahren zur Bestimmung der

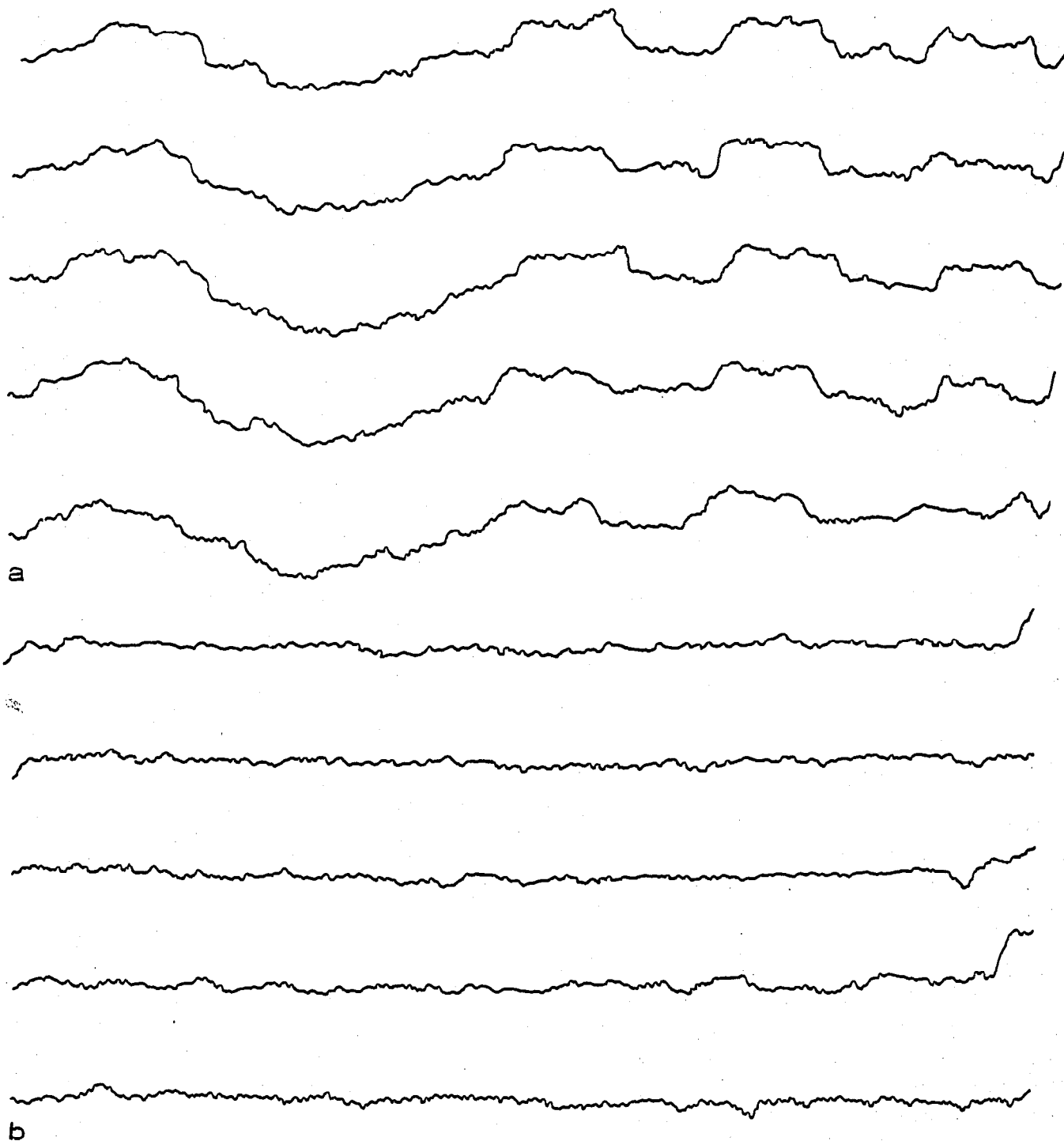


Fig. 2. Messungen des Plattenuntergrundes derselben DC-Fertigplatte in verschiedenen Richtungen (a, b) und mehreren R_F -Bereichen.

Corticosteroide nicht zum Ziel führen. Er empfahl für die Prüfung dieser Präparate Aktivitätsmessungen nach ^{14}C -Markierung der Substanz. Dieses Verfahren ist aber wie die von anderen Autoren beschriebene Methode⁵ für Routine-Analysen nicht einsetzbar. Es wurde von uns systematisch versucht, die qualitative Dünnschichtchromatographie für quantitative Aussagen auszubauen. Fluoreszierende Substanzen⁶ bieten sich für eine Direktauswertung besonders an. Schwierigkeiten können dann auftreten, wenn fluoreszierende Derivate hergestellt werden müssen⁷. Einen Ausweg bietet in vielen Fällen die quantitative Auswertung nicht fluoreszierender Substanzen auf fluoreszenzhaltigen DC-Platten⁸.

Bei der Registrierung der Flecken werden oft Peaks erhalten, die dieses Verfahren für eine quantitative Bestimmung unbrauchbar erscheinen lassen. Wir haben durch Blindmessungen festgestellt, dass plattenbedingte Ungleichmässigkeiten dafür verantwortlich sind (Fig. 1a und b). Weiter konnte durch Untersuchungen automatisch und manuell beschichteter Platten immer wieder festgestellt werden, dass diese Ungleichmässigkeiten bei Messungen quer zur Streichrichtung besonders stark ins Gewicht fallen. Auffallend ist ferner, dass die Schichtbeschaffenheit in weitem Masse R_F -unabhängig ist (Fig. 2). Daraus ergibt sich für die Praxis, dass (1) jede für die quantitative Auswertung einzusetzende fluoreszenzhaltige DC-Platte auf Eignung geprüft werden muss und (2) dass es ausreicht, wenn diese Blindmessung je 1 mal in und quer zur vermutlichen Streichrichtung über die Plattenmitte vorgenommen wird, um gegebenenfalls zu entscheiden, in welcher Richtung die Chromatographie durchgeführt werden kann.

Die erhaltenen Registrierungen des Plattenuntergrundes sind darüber hinaus am besten geeignet, geringfügige Störpegel der Peakregistrierungen zu kompensieren. Für die Ermittlung der Peakflächenwerte scheint uns aus dem gleichen Grunde die Berechnung nach der Methode Höhe \times Halbwertsbreite besonders geeignet.

Die quantitative Bestimmung der im Titel genannten Substanzen erfolgt in üblicher Weise nach DC-Auftrennung (Kieselgel F₂₅₄) gegen zwei bis drei verschiedene, bekannte Vergleichsmengen, die im Wechsel aufgetragen werden⁶. Die Messungen wurden mit dem Turner-Fluorometer (Camag) und angeschlossenem Kompensationschreiber (Metrawatt) unter folgenden Bedingungen durchgeführt: Lichtquelle 254 nm; Primärfilter 110–810; Sekundärfilter 110–817, 110–823 (1%); Blendeneinstellung 30 \times ; Breite des Messspalts, 1 mm.

Aus den Peakflächenwerten der Eichmengen lässt sich eine Eichbeziehung erstellen, mit deren Hilfe der Gehalt in der zu prüfenden Lösung bestimmt werden kann. Die relative, auf 2 Messwerten basierende Standardabweichung lässt sich in allen Fällen unter $\pm 5\%$ halten. Einzelheiten der DC-Fluorometrie sind aus Tabelle I ersichtlich.

Zur Abtrennung der genannten Substanzen aus arzneilichen Zubereitungen wurde folgendermassen vorgegangen.

(1) Aminophenazon, Phenylidemethylpyrazolon und Coffein liegen einzeln oder in Kombination meist in Tabletten vor. Zur quantitativen Elution und Abtrennung von Tablettenfüllmitteln eignet sich Methanol. Zum Auffüllen auf ein bestimmtes Volumen (ca. 50–100 mg Substanz/100 ml) wird soviel dest. Wasser benutzt, dass eine 80% methanolhaltige Auftragslösung vorliegt.

(2) Die PHB-Ester Nipagin M[®] und Nipasol M[®] lassen sich in üblicher Weise nach Stas-Otto⁹ aus einem Gemisch isolieren.

TABELLE I

DC-FLUORESZENZDATEN DER MESSSUBSTANZEN

Substanz	ϵ_{254}	Messbereich (μg)	DC-Laufmittel
Phenyldimethylpyrazolon	8 060	5-15	Cyclohexan-Aceton (4:5)
Aminophenazon	9 670	5-13	Cyclohexan-Aceton (4:5)
Coffein	6 100	3- 9	Cyclohexan-Aceton (4:5)
Nipagin M [®]	16 130	1- 3	Hexan-Essigester-Eisessig (8:1:1)
Nipasol M [®]	16 450	1- 3	Hexan-Essigester-Eisessig (8:1:1)
Triamcinolonacetonid	9 910	4- 8	Dichlormethan-Aceton (4:1)

(3) Die Verfahren zur Isolierung des Triamcinolonacetonids aus den Zubereitungen (Salbe, Creme, Lotio, Gel) richten sich nach Zusammensetzung und System der entsprechenden Arzneiformen. Nach Abtrennung der eventuell vorhandenen lipophilen Trägerstoffe kann in der Regel im System Wasser-Methanol-Chloroform (1:1:1) eine quantitative Verteilung der Substanz in der Chloroformphase erreicht werden.

In speziellen Fällen muss vor der quantitativen DC noch eine Reinigung mittels präparativer DC eingeschaltet werden, um Störungen auf der Messplatte zu verhindern.

Kontroll-Laboratorium und Entwicklungsabteilung
der Dr. Willmar Schwabe GmbH,
75 Karlsruhe-Durlach (Deutschland)

W. MESSERSCHMIDT
W. WEISSER

- 1 H. W. DIBBERN UND G. SCHOLZ, *Arch. Pharm.*, 298 (1965) 175.
- 2 E. GRAF, S. VOGT, M. GRASER UND CH. BURK, *Pharm. Z.*, 111 (1966) 1467.
- 3 J. KRÉPINSKÝ UND J. STIBOROVÁ, *Czech. Farm.*, 15 (1966) 25.
- 4 E. BRODE, *Arzneimittel-Forsch.*, 17 (1967) 103.
- 5 F. BAILEY, H. HOLBROOK UND R. J. MILLER, *J. Pharm. Pharmacol.*, 18, Suppl. (1966) S. 12; ref.: *Pharm. Z.*, 112 (1967) 485.
- 6 W. MESSERSCHMIDT, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 551.
- 7 W. MESSERSCHMIDT, *Dtsch. Apoth.-Ztg.*, 108 (1968).
- 8 R. KLAUS, *J. Chromatog.*, 16 (1964) 311.
- 9 H. MÜHLEMANN UND A. BÜRGIN, *Qualitative Arzneimittel-Analyse*, Reinhardt, Basel, 1956, S. 18.

Eingegangen am 25. Juli 1968

J. Chromatog., 38 (1968) 156-159