

Dünnschichtchromatographie

Die Chromatographie ist eine sehr leistungsfähige und verbreitete Trennmethode. Sie wurde erstmals vom russischen Botaniker Tswett 1903 zur Trennung von Blattfarbstoffen angewendet (chroma, gr. = Farbe).

Für die Dünnschichtchromatographie (DC) verwendet man Plättchen aus Kunststoff, Aluminium oder Glas, die mit einer dünnen Schicht eines sehr feinkörnigen Stoffes (z.B. Cellulose- oder Aluminiumoxidpulver) beschichtet sind.

Diese Schicht bezeichnet man als **stationäre Phase**. Das zu trennende Gemisch wird nun in der Nähe des unteren Randes des Plättchens punktförmig aufgetragen. Anschliessend wird das Plättchen in ein Gefäss gestellt, das eine geringe Menge Flüssigkeit enthält. Diese Flüssigkeit bezeichnet man als Fließmittel oder **mobile Phase**.

Das Fließmittel steigt nun durch die Kapillarkraft in der Schicht hoch. Sobald die Flüssigkeit den Gemischfleck erreicht hat, sind die Teilchen des Gemisches der Anziehungskraft der stationären Phase einerseits **und** der Anziehungskraft der mobilen Phase andererseits ausgesetzt. Je nach Kräfteverhältnis bleibt ein Teilchen eher am Startpunkt oder es wandert eher mit der mobilen Phase nach oben.

Die Kräfte und somit das Wanderverhalten eines Teilchens hängen sowohl von der Art des Schichtmaterials und des Fließmittels, als auch von der Art des Teilchens ab.

In den meisten Fällen lassen sich Schichtmaterialien und Fließmittelgemische so kombinieren, dass die verschiedenen Teilchensorten eines Gemisches verschieden weit wandern, sodass sie sich voneinander trennen lassen.

Auftragen der Probe

Achtung: Schicht des Plättchens nicht mit den Fingern berühren und nicht ankratzen !

1. Die Schablone etwa 1 cm vom unteren Rand des Plättchens andrücken (Abb. 9)
2. Mit weichem Bleistift sehr sanft die Startlinie anzeichnen.
3. Die Kapillare **kurz** in die Probelösung eintauchen, damit etwas Lösung in die Kapillare aufsteigt.
4. Dieser Schritt wird zuerst vom Lehrer demonstriert. Die Kapillare **senkrecht** auf die Schicht aufsetzen (Abb. 10). Sobald etwas Lösung ausfließt, die Kapillare **sofort** abheben, damit der Fleck auf der Schicht nicht zu gross wird. Bei konzentrierten Proben genügt einmaliges Auftragen, bei verdünnteren Proben wartet man bis der Fleck trocken ist und trägt am selben Ort nochmals Lösung auf. Der Durchmesser des Startflecks sollte **möglichst klein** sein!
5. Bei den übrigen Startpunkten trägt man auf gleiche Weise die anderen Lösungen auf.

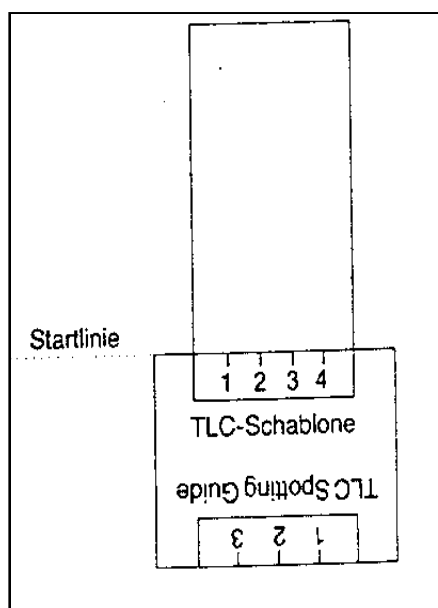


Abb. 1: Schablone zur Auftragung der Proben

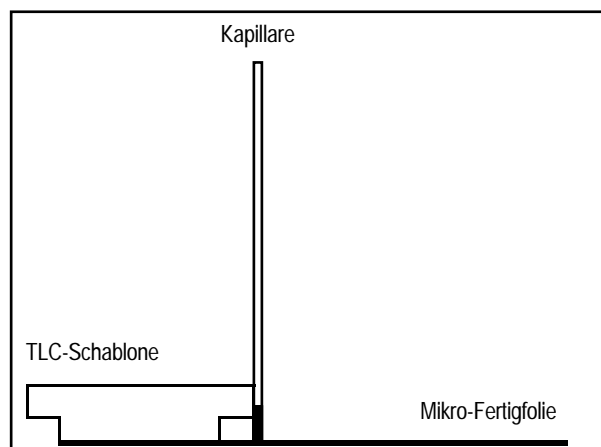


Abb. 2: Auftragen der Probe auf eine Mikro-Fertigfolie mit Kapillare und TLC-Schablone

Trennen (Entwickeln)

1. Man gibt das Fliessmittel in das Chromatographiegefäss ca. 0,5 cm hoch, stellt das Plättchen hinein und schliesst das Gefäss mit dem Deckel. Gefäss *ruhig* stehen lassen.
2. Warten, bis das Fliessmittel ca. 1 cm vom oberen Ende des Plättchens entfernt ist, Plättchen herausnehmen und die Fliessmittelfront mit dem Bleistift *sofort* markieren.
3. Plättchen mit dem Fön trocknen.

Versuche

I. Untersuchung von Tinten und Filzstiften

Plättchenbeschichtung: Cellulose (CEL) oder Kieselgel (SIL)

Fliessmittel: Wasser

Kleine Punkte mit einem Filzschreiber oder unverdünnte Tinte auf die Startlinie auftragen.

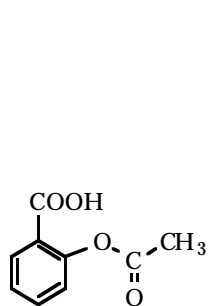
II. Untersuchung von Schmerzmitteln

Schicht: Kieselgel (SIL)

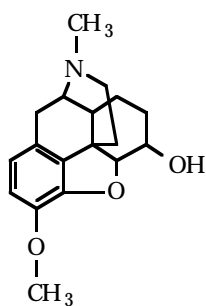
Fliessmittel: Ethylacetat : Methanol
105 : 5

Extraktion der Wirkstoffe:

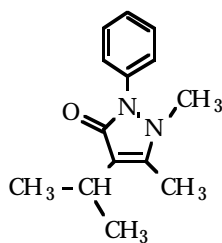
1. Eine Tablette in einem Mörser zu feinem Pulver zerreiben.
2. Pulver in ein grosses RG geben und 20 ml Alkohol hinzufügen. Während ca. 1/2 Minute heftig schütteln.
3. Lösung durch ein Faltenfilter in ein kleines RG filtrieren. Diese Lösung auf den linken Startpunkt **zweier** Plättchen auftragen. Bei den übrigen Startpunkten der beiden Plättchen trägt man auf gleiche Weise die Proben der Vergleichsubstanzen auf:



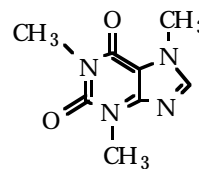
Acetylsalicylsäure



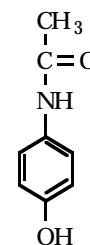
Codein



Propyphenazon



Coffein



Paracetamol

Sichtbarmachen der Flecken

1. Beide Plättchen zuerst unter einer UV-Lampe bei 254 nm betrachten (verdunkeln) und die Flecken vorsichtig mit einem Bleistift umranden.
2. Nachweis von Acetylsalicylsäure und Paracetamol:
Die Folie wird für 5 Minuten in den Trockenschrank bei 110°C gelegt. In den Sprüher gibt man 5 ml der $K_3[Fe(CN)_6]$ -Lösung und anschliessend 5 ml der $FeCl_3$ -Lösung (auftretende Fällungen sind zu vernachlässigen). Die zuvor erhitzte Folie wird leicht mit diesem Sprühreagens besprüht und kurz gefönt.
Die Flecken von Paracetamol (blau) und Acetylsalicylsäure (graubraun bis violett) werden mit dem Bleistift umrandet.

3. Nachweis von Coffein:

Die Folie wird hauchdünn mit dem Spezialreagens für Coffein besprüht (Kapelle!), kurz **kalt** gefönt und nochmals hauchdünn besprüht. Nach kurzem Trocknen im Kaltluftstrom werden die braunen Coffeinflecken auf hellblauem Hintergrund mit einem Bleistift umrandet.

Kleben Sie Ihre Folien in die dafür vorgesehenen Felder und bezeichnen Sie die Wirkstoffe, die in Ihrer Tablette vorhanden sind.

Zur Wirkung von Schmerzmitteln

Allgemeines:

Am häufigsten werden Schmerzmittel bei Grippe ("Erkältungskrankheiten") eingenommen. Da es sich dabei um Infektionskrankheiten handelt, die von schwer bekämpfbaren Viren ausgelöst werden, sollte man sich bewusst sein, dass diese Mittel die Krankheit nicht heilen. Sie lindern lediglich die damit verbundenen Beschwerden, indem sie z. B. Schmerzen unterdrücken.

Die untersuchten Schmerzmittel weisen drei Wirkungen auf:

- Unterdrückung von Kopf-, Muskel-, Gelenk-, Menstruations- und Zahnschmerzen.
- Entzündungshemmung (z.B. bei Schmerzen durch Gelenkentzündungen)
- Fiebersenkung durch Beeinflussung des Temperaturzentrums im Gehirn. Da Fieber zu den natürlichen Abwehrmechanismen des Körpers gehört, kann diese Wirkung bei gefährlichen Krankheiten problematisch sein.

Obwohl es nur wenige erprobte Schmerzmittel gibt, von denen wir die wichtigsten untersucht haben, gibt es auf dem Markt Dutzende von Präparaten, welche oft dieselben Wirkstoffe enthalten. Kombinationspräparate enthalten zusätzlich zum Schmerzmittel meist die in dieser Verwendung umstrittenen Stoffe Coffein bzw Codein (vgl. unten). Eine synergistische Wirkung konnte bislang nicht nachgewiesen werden.

Acetylsalicylsäure:

ASS ist das älteste bekannte und meistverwendete Schmerzmittel. (Aspirin, Aspro etc.) Entdeckt wurde es in Afrika, wo zur Schmerzlinderung eine Strauchwurzel gegessen wurde, die ASS enthält. Obwohl im allgemeinen gut verträglich, kann ASS die Schleimhaut schädigen und so zu Magenbeschwerden führen.

Paracetamol:

Die Wirkung von Paracetamol und ASS ist nahezu identisch. In kleinen Mengen verwendet ist es das verträglichste Schmerzmittel. In grösseren Mengen kann es allerdings die Leber schädigen.

Propyphenazon:

Propyphenazon wurde als Ersatz für das chemisch ähnliche Aminophenazon entwickelt, das zu einer Abnahme weisser Blutkörperchen und zur Bildung von Nitrosaminen führen kann (vgl. Praktikumsversuch: Nitrit und Nitrat in Lebensmitteln).

Da die gesamte Gruppe diese Stoffe mit der Schädigung des Blutbildes belastet ist, können diese Nebenwirkungen auch für Propyphenazon nicht ausgeschlossen werden. 1992 forderte die Arzneimittelkommission der Deutschen Aerzteschafte vergeblich, Propyphenazon-haltige Präparate unter Rezeptpflicht zu stellen.

Codein:

Codein ist ein Morphin-Derivat und weist somit eine ähnliche chemische Struktur wie Morphin oder Heroin auf. Es weist keine eigentliche Wirkung als Schmerzmittel auf, sondern wirkt beruhigend und dämpfend.

Die Gefahr, von Codein abhängig zu werden, ist gering. Es besteht jedoch eine gewisse Gewöhnungsgefahr, d.h. es braucht immer höhere Dosen, um die gleiche Wirkung zu erzielen.

Coffein:

Coffein ist ebenfalls kein Schmerzmittel, sondern wirkt anregend. Es ist auch in Kaffee, Tee und Cola-getränken enthalten. Die Verwendung in Kombinationspräparaten ist umstritten, da die anregende Wirkung keinen unmittelbaren Nutzen in der Schmerzbekämpfung aufweist.

Quellen:

- Arzneimittel-Kompendium der Schweiz, Verlag Documed AG, Basel, 1986
- K. Langbein, H. Martin, H. Weiss: Bittere Pillen, Nutzen und Risiken der Arzneimittel. Ein kritischer Ratgeber, Verlag Kiepenheuer und Witsch, Köln, 1993

Materialliste

Allgemein

- 2 Föne
- DC-Kapillaren
- DC-Platten (Kieselgel und Cellulose)
- UV-Lampe
- Ethanol
- Schmerzmittel-Tabletten (KAFA, TREUPEL, PANADOL, usw)
- Wirkstoffe für Schmerzmittel: Acetylsalicylsäure, Paracetamol, Propyphenazon, Codein, Coffein
- Sprühreagenz zum Nachweis von Coffein
- 0.1 M Lösung von $K_3[Fe(CN)_6]$
- 0.1 M Lösung von $FeCl_3$
- 1 Sprühflasche mit Ballon
- Fließmittel: Ethylacetat und Methanol im Verhältnis 105 : 5
- Trockenschrank vor der Stunde einschalten ($110^\circ C$).

Pro Arbeitsplatz

- 3 DC-Gefässe
- 1 DC-Schablone
- 1 kleiner Mörser mit Pistill
- 1 kleiner Trichter (Durchmesser = 5 cm)