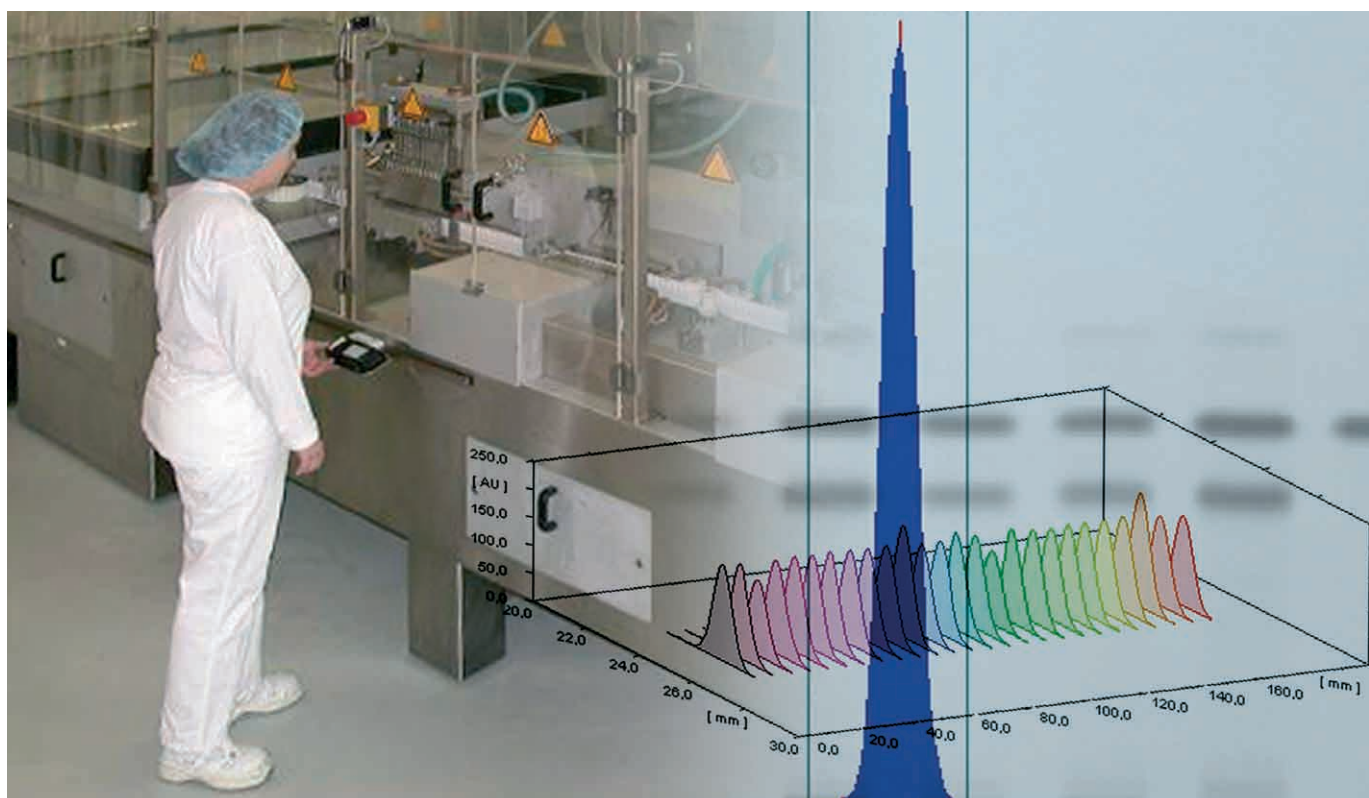


CBS

CAMAG BIBLIOGRAPHY SERVICE



Erfolgsstory für die Planar-Chromatographie am Beispiel von Content Uniformity Test

CAMAG

92

Nr. 92, März 2004

CAMAG Literaturdienst
Planar-Chromatographie
Herausgegeben von Gerda Morlock
Eigenverlag CAMAG Schweiz

IN DIESER AUSGABE

Verfahren, Anwendungen, Events

Erfolgsstory für CUT mit der
Planar-Chromatographie 2–4

Sphärische Sorbentien
in der HPTLC 5–7

Wie international war das
HPTLC Symposium 2003? 9

Konvertierung
eines Gradienten vom AMD1
zum AMD2 System 10–12

Quantitative Bestimmung
von Markern in Botanicals:
Qualitätskontrolle von
Stephania tetrandra 13–15

**In dieser Ausgabe hervorgehobene
CAMAG Produkte**

TLC-Scanner 3 3

AMD2 System 11

HPTLC-Vario System 15

Neues von winCATS 16

Rubrik: Kennen Sie CAMAG?

CAMAG's neue Homepage –
da sollten Sie reinschauen 8



CAMAG (Schweiz)
Sonnenmattstr. 11 • CH-4132 Muttenz 1
Tel. +41 61 467 3434 • Fax +41 61 461 0702
info@camag.com

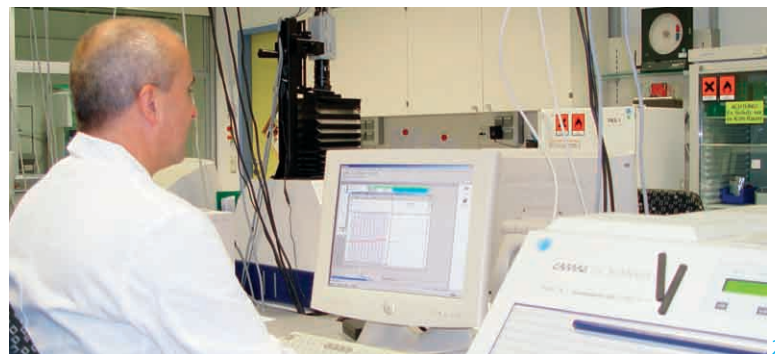
CAMAG (Deutschland)
Bismarckstr. 27–29 • D-12169 Berlin
Tel. +49 30 516 55 50 • Fax +49 30 795 7073
info@camag-berlin.de
www.camag.com

Aus der Praxis

**Erfolgsstory
Planar-Chromatographie**



▲ Istvan Mesaros, Silvia Siggert, Barbara Wochner, Harald Jehle, Daniela Kleiber, Nadine Sinner (von links nach rechts)



▲ Istvan Mesaros am HPTLC-Arbeitsplatz

ALTANA Pharma ist ein international operierendes Unternehmen der forschenden pharmazeutischen Industrie mit Sitz in Konstanz. Über 7.500 Mitarbeiter(innen) arbeiten in 30 Tochter- und Beteiligungsfirmen in den Geschäftsfeldern Therapeutik, Diagnostik und Selbstmedikation.

Die Planar-Chromatographie wird im Unternehmen seit den 70iger Jahren auch zur quantitativen Bestimmung eingesetzt. Die nachfolgende Anwendung, ein Beitrag des Teams von Herrn Jehle* in der Abteilung Quality Control Non-Sterile Products, verdeutlicht, warum die Planar-Chromatographie in einem innovativen und kostenorientierten Unternehmen eine wichtige Stellung einnimmt. Die Planar-Chromatographie eignet sich hier besonders, da sich die Analysenzeit für einen Content Uniformity Test im Vergleich zu anderen chromatographischen Verfahren als unschlagbar kurz darstellt. Zum Beispiel ist die planar-chromatographische Bestimmung um 70% schneller im Vergleich zur entsprechenden HPLC-Bestimmung. Zusätzlich konnten durch die selektive Detektion Matrixeffekte ausgeschlossen werden.

CUT von Cinchocainhydrochlorid

Prüfung auf Gleichförmigkeit des Gehaltes einzel-dosierter Arzneiformen (CUT) nach Europäischem Arzneibuch am Beispiel von Cinchocainhydrochlorid in Suppositorien

Einleitung

Cinchocainhaltige Zäpfchen werden als Mittel gegen Hämorrhoiden (Proktologika), insbesondere mit entzündlichen Begleiterscheinungen und Blutungen, bei Analfissuren, Analrhagaden, Analekzemen, Analpruritus und zur Wundbehandlung nach proktologischen Operationen eingesetzt.

Entsprechend dem Europäischen Arzneibuch muss bei einem Wirkstoffgehalt von weniger als 2%, bezogen auf die Gesamtmasse, die Gleichförmigkeit des Gehaltes bewiesen werden. In 10 willkürlich nach dem Stichprobenverfahren entnommenen cinchocainhaltigen Zäpfchen wird einzeln der Wirkstoffgehalt wie nachfolgend beschrieben bestimmt.

Probenvorbereitung

10 Zäpfchen werden einzeln in 250 mL Messkolben gegeben, mit 60 mL Methanol und 30 mL Wasser versetzt und bei 50°C in einem Schüttelwasserbad 20–30 min geschmolzen. Anschliessend wird die Suspension kräftig von Hand geschüttelt und unter weiterem Schütteln an einem Schüttler auf Raumtemperatur abgekühlt, so dass das Fett nahezu quantitativ und feinverteilt ausflockt. Die Messkolben werden mit Ethanol ad 250 mL aufgefüllt. 9 mL dieser Lösung werden 15 min in einer Kühlzentrifuge (0°C, 2000 UpM) zentrifugiert. Dabei fallen eventuell noch vorhandene, gelöste Fettreste aus. Die Probelösungen werden über einen Einmalfilter (0,45 µm) direkt in je ein Vial filtriert.

Standardlösung

50 mg Cinchocainhydrochlorid werden in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit Methanol bis zur Marke aufgefüllt. Je 0,4, 0,5 und 0,6 mL dieser Lösung werden ad 25 mL mit Methanol verdünnt.



CAMAG TLC-Scanner 3

Die klassische Densitometrie mit dem CAMAG TLC-Scanner 3 bietet die bestmögliche Genauigkeit der quantitativen Auswertung. Zur Zeit der sich schnell ausbreitenden Image-Technologie ist das klassische Densitometer noch immer unverzichtbar, wenn spektrale Selektivität und Empfindlichkeit gefordert werden.

Zur Auswertung steht der gesamte spektrale Bereich von 190–800 nm zur Verfügung. Innerhalb dieses Bereichs können auch Absorptionsspektren oder Anregungsspektren zur Identifizierung von Substanzen aufgenommen werden.

Mit der Software »winCATS Planar Chromatography Manager« ist der CAMAG TLC-Scanner 3 der fortschrittlichste Messplatz zur densitometrischen Auswertung von Planar-Chromatogrammen. Für zusätzliche Anforderungen stehen unterschiedliche Optionen zur Verfügung, so auch seit diesem Jahr die Option »21 CFR Part 11 compliance ready« (siehe S. 16).

Schicht

HPTLC-Platten Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck), 20 x 10 cm

Probenauftragung

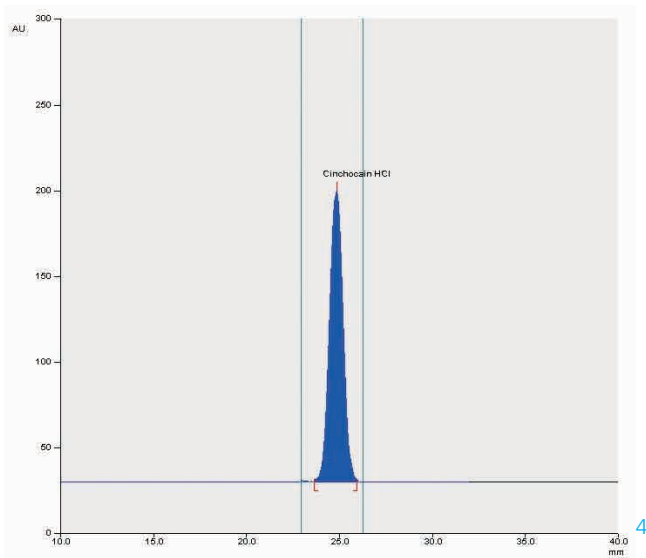
Bandförmig mit DC-Probenautomat 4, 26 Bahnen nach der Data-pair-Technik, Bandlänge 5 mm, Auftragevolumen 1,6 µL, unterer Randabstand 10 mm, seitlicher Randabstand 20 mm, Bahnabstand 6,4 mm. Nach der Auftragung wird die Platte 30 s bei 110°C auf einem Plattenheizer getrocknet.

Chromatographie

In CAMAG Flachbodenkammer mit 1-Butanol – Toluol – Ethanol – Wasser – Essigsäure 100% 10:8:7:4:1, Laufstrecke 30 mm vom unteren Plattenrand, Laufzeit 20 min. Nach der Chromatographie wird die Platte 10 min bei 110°C auf einem Plattenheizer getrocknet.

Densitometrische Auswertung

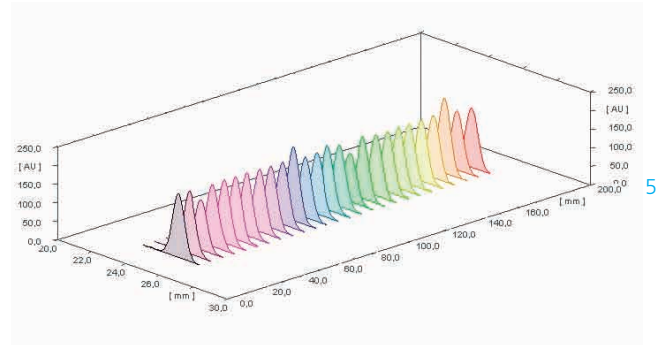
TLC-Scanner 3 mit winCATS Software, Fluoreszenzmessung bei 313/>400 nm, Auswertung über die Peakfläche mittels linearer Regression.



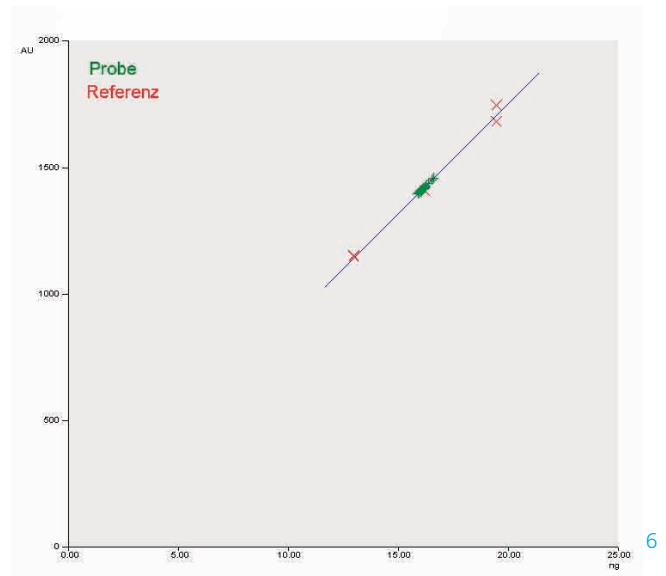
▲ Darstellung eines Cinchocainpeaks

Ergebnisse und Diskussion

Das Verfahren ist validiert. Die Präzision beträgt 2%. Die Wiederfindungsrate liegt bei 101%. Die lineare Kalibrierfunktion weist einen Korrelationskoeffizienten von 0,993 und eine relative Standardabweichung von 1,91% auf.



▲ 3D-Darstellung von 26 Bahnen



▲ Lineare Kalibrierfunktion von Cinchocain HCl

Weitere Informationen sind von dem Autor auf Anfrage erhältlich.

*Harald Jehle, Quality Control Non-Sterile Products, ALTANA Pharma AG, Byk-Gulden-Str. 2, D-78467 Konstanz, Tel +49 (0)7531-84-3260, harald.jehle@altanapharma.com

Lohnt sich der Einsatz sphärischer Sorbentien in der HPTLC?



Dr. H. Hauck, M. Schulz, C. Lorenz



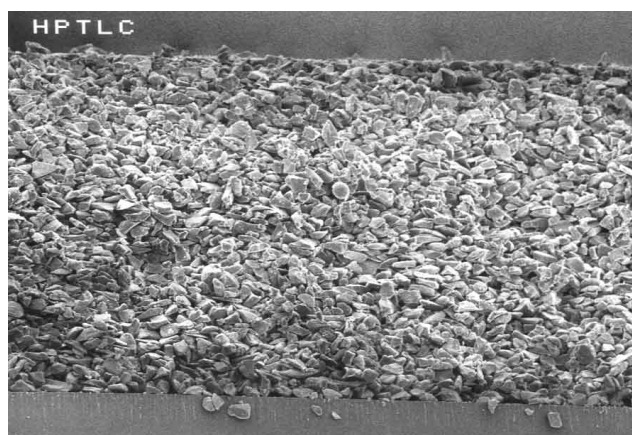
Dr. A. Koch

Dr. Heinz Hauck* ist Leiter des Labors, das in der Abteilung A&R/R&D der Merck KGaA, Darmstadt für Forschung und Entwicklung im Bereich Planar-Chromatographie zuständig ist. Dieser Beitrag entstand in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Ing. Michael Schulz, Herrn Carsten Lorenz, Auszubildender im o.g. Bereich und Frau Dr. Angelika Koch*, Frohme Apotheke, Hamburg.

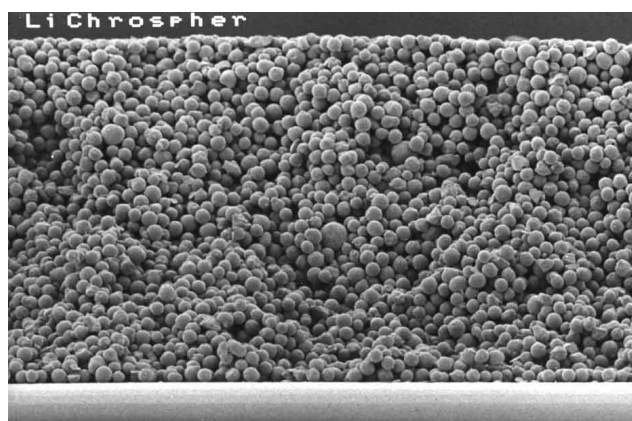
Einleitung

Nachdem 1975 durch Einführung der HPTLC-Fertigschichten mit einer engeren Korngrößenverteilung und einer deutlich verringerten mittleren Teilchengröße im Vergleich zu den bis dahin für die Dünnschicht-Chromatographie eingesetzten Sorbentien eine drastische Verbesserung von Trennleistung und optischen Eigenschaften erzielt wurde, konnten nunmehr durch den Einsatz von sphärischen Sorbentien weitere signifikante Verbesserungen realisiert werden.

Diese mit dem Warenzeichen LiChrospher® bezeichneten sphärischen HPTLC-Fertigschichten zeichnen sich durch eine nochmals engere Korngrößenverteilung innerhalb einer optimierten mittleren Teilchengröße aus.



9



10

▲ Vergleich einer HPTLC-Platte Si 60 (oben) mit einer HPTLC-Platte LiChrospher® Si 60 (unten)

Weitere Hinweise und Beispiele für Trennungen auf sphärischen Schichten sind von den Autoren auf Anfrage erhältlich.

*Dr. Heinz E. Hauck, Merck KGaA, A&R/R&D Synthese und Derivatisierung, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt, Tel. +49 (0)6151 -722830, Heinz-Emil.Hauck@merck.de und Dr. Angelika Koch, Frohme-Apotheke, Frohme Str. 14, D-22457 Hamburg.

Vergleich der Laufzeiten

In der Tabelle sind die Laufzeiten der beiden Arten HPTLC-Platten über die für die jeweiligen Fließmittel als optimal ermittelten Laufstrecken miteinander verglichen. Es zeigt sich, dass die Laufzeiten auf HPTLC-LiChrospher-Platten im Durchschnitt um ca. 25% kürzer sind als auf HPTLC-Platten mit irregulär gebrochenem Kieselgel.

Fließmittel	Laufstrecke [cm]	Laufzeit [s]	
		HPTLC Kieselgel 60	HPTLC LiChrospher® Si 60
Toluol	4	345	240
Ethylacetat – Toluol 19:1	5	470	360
Methylethylketon – 1-Propanol – Wasser – Essigsäure 8:8:4:1	5	186	120
n-Hexan – Toluol – Aceton 7:2:1	7	1140	780
Petroleumbenzin (40–60°) – Aceton 7:3	7	1200	1020

Vergleich der Retention und Selektivität

Zum Vergleich des Retentionsverhaltens und der Selektivität der beiden HPTLC-Platten sind in der Tabelle die hR_F -Werte und die zugehörigen Selektivitätswerte für die Pestizide Hexazinon, Aldicarb und Trifluralin auf Normalphasen mit Petroleumbenzin (40–60°) – Aceton 7:3 als Fließmittel einander gegenübergestellt. Auf Umkehrphasen wurden diese Werte für die Pharmawirkstoffe Phenacetin, Coffein und Acetylsalicylsäure mit dem Fließmittel Acetonitril – Wasser 4:6 bestimmt. Die Ergebnisse zeigen nur relativ geringe Unterschiede im Retentionsverhalten mit einer annähernd identischen Selektivität, so dass eine sehr gute Übertragbarkeit der Trennungen auf LiChrospher-Schichten in diesem Beispiel gegeben ist.

Kenngroße	HPTLC Kieselgel 60	HPTLC LiChrospher® Si 60
hR_F Hexazinon	19,7	24,6
hR_F Aldicarb	52,3	57,0
hR_F Trifluralin	88,2	93,0
Selektivität Aldicarb/Hexazinon	2,6	2,3
Selektivität Trifluralin/Aldicarb	1,7	1,6

Kenngroße	HPTLC RP-18 W	HPTLC LiChrospher® RP-18 W
hR_F Phenacetin	29,8	34,5
hR_F Coffein	45,8	48,3
hR_F Acetylsalicylsäure	57,2	64,3
Selektivität Coffein/Phenacetin	1,5	1,4
Selektivität Acetylsalicylsäure/Coffein	1,3	1,3

Vergleich der Trennleistung

Zur Charakterisierung und zum Vergleich der jeweiligen Trennleistung von HPTLC-Platten mit sphärischen bzw. irregulär gebrochenen Sorbentien wurden die Trennzahlen für die folgenden Trennungen bestimmt:

- HPTLC LiChrospher® Si 60 und HPTLC Kieselgel 60 Trennung der Steroide Hydrocortison, Reichstein's Substanz S, Methyltestosteron mit Ethylacetat – Toluol 19:1
- HPTLC LiChrospher® Si 60 und HPTLC Kieselgel 60 Trennung der Pestizide Hexazinon, Aldicarb, Trifluralin mit Petroleumbenzin (40–60°) – Aceton 7:3
- HPTLC LiChrospher® RP-18 W und HPTLC RP-18 W Trennung der Pharmawirkstoffe Phenacetin, Coffein, Acetylsalicylsäure mit Acetonitril – Wasser 4:6

Die in der nächsten Tabelle aufgeführten Trennzahlen belegen sowohl für die nicht modifizierten Kieselgele als auch für die RP-18 Modifizierungen die deutlich bessere Trennleistung der sphärischen HPTLC-Sorbentien im Vergleich zu den irregulär gebrochenen Materialien.

Plattentyp	Trennzahl _{Steroide}	Trennzahl _{Pestizide}	Trennzahl _{Pharmawirkstoffe}
HPTLC Kieselgel 60	12,5	12,5	–
HPTLC LiChrospher® Si 60	13,5	15,8	–
HPTLC RP-18 W	–	–	6,7
HPTLC LiChrospher® RP-18 W	–	–	7,6

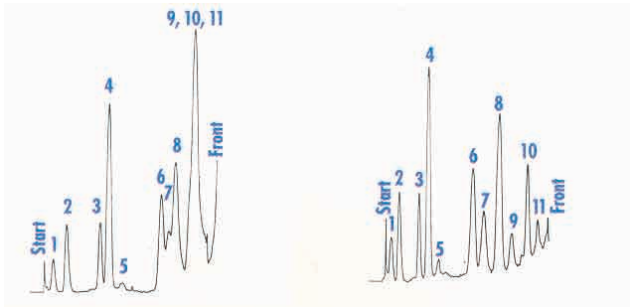
Vergleich der Nachweisempfindlichkeit

Die erhöhte Trennleistung, d.h. die kompaktere Zonenbildung auf den HPTLC-Platten LiChrospher®, hat auch eine Steigerung der Nachweisempfindlichkeit im Vergleich zu den HPTLC-Schichten mit gebrochenem Kieselgel zur Folge. Die Tabelle unten belegt dies anhand der Nachweisgrenzen verschiedener UV-aktiver Substanzen sowohl bei visueller Auswertung unter einer UV-Lampe bei 254 nm als auch bei spektrophotometrischer Auswertung mit einem Scanner.

Substanz	Nachweisgrenzen bei UV 254 nm [ng/Zone]			
	Visuell Kieselgel 60 F ₂₅₄	LiChrospher® Si 60 F _{254s}	Scanner Kieselgel 60 F ₂₅₄	Scanner LiChrospher® Si 60 F _{254s}
2-Aminophenol	50	25	25	5
3-Aminophenol	10	5	10	5
4-Aminophenol	>100	50	50	25
Ascorbinsäure	100	100	100	25
Atrazin	50	25	10	5
Cortison	50	25	25	10
Prometryn	25	10	10	5
Theophyllin	50	25	25	10

Applikationen

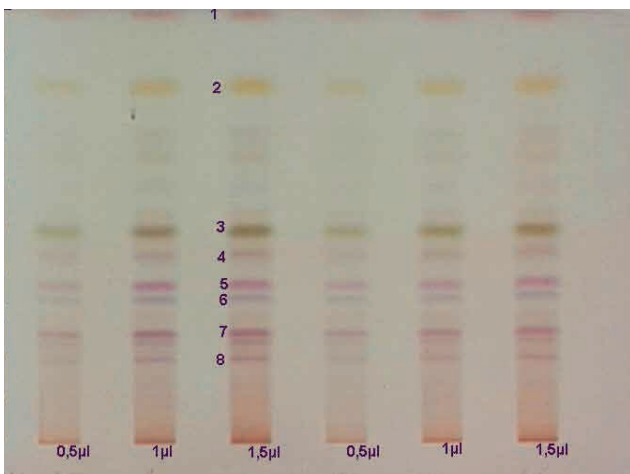
Die Trennung von Pharmawirkstoffen mit Ethylacetat – Methanol – 25% Ammoniak 17:2:1 zeigt Abb. 11. Bei einer Laufstrecke von 8 cm betrug die Laufzeit 18 min auf HPTLC-Platten LiChrospher® Si 60 F_{254s} im Vergleich zu 26 min auf HPTLC-Platten Kieselgel 60 F₂₅₄.



11

▲ Trennung von Pharmawirkstoffen auf HPTLC-Platten Kieselgel 60 (links) und LiChrospher® Si 60 (rechts), Absorptionsmessung bei UV 220 nm: Nitrofurantoin (1), Theophyllin (2), Atenolol (3), Hydrochlorthiazid (4), Theobromin (5), Metoprololtartrat (6), Propafenonhydrochlorid (7), Molsidomin (8), Phenazopyridinhydrochlorid (9), Spironolacton (10), Verunreinigung (11)

Die Trennung eines Extraktes aus *Boswellia carteri* (Weihrauch) auf HPTLC-Platten LiChrospher® Si 60 F_{254s} mit Toluol – Ethylacetat – Ameisensäure (wasserfrei) – n-Heptan 80:20:3:10 ist nachfolgend dargestellt.



12

▲ Trennung von Weihrauch-Extrakt auf HPTLC-Platte LiChrospher® Si 60, postchromatographische Derivatisierung mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz: Verticillatrien (1, lila), Incensol-acetat (2, ockergelb), Incensol (3, grünocker), 3-Acetyl-8,24-dien-tirucallsäure (4), 3-Acetyl-β-boswelliasäure (5, lila), 3-Oxo-8,24-dien-tirucallsäure (6, blau), β-Boswelliasäure (7, lila), 11-Hydroxy-Boswelliasäure (8)

Ergebnisse und Diskussion

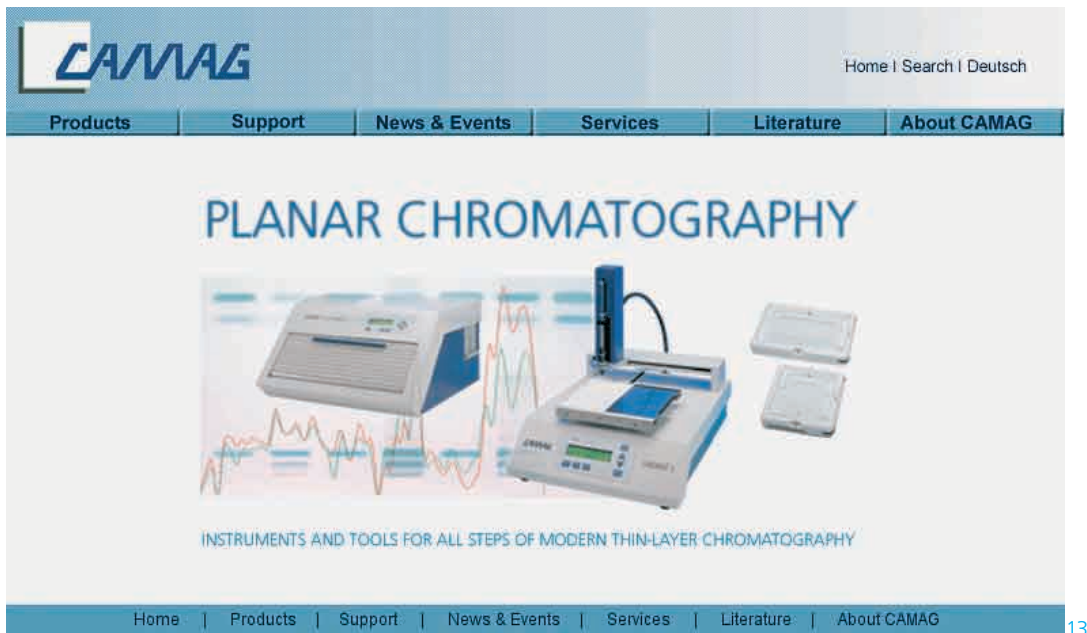
Der Einsatz von sphärischen Sorbentien in der Hochleistungs-Dünnschichtchromatographie führt im Vergleich zu entsprechenden Fertigschichten mit irregulär gebrochenen Materialien bei vergleichbarem Retentions- und Selektivitätsverhalten zu einer deutlichen Verbesserung im Hinblick auf

- Analysengeschwindigkeit (um ca. 25% kürzere Laufzeiten)
- Trennleistung
- Nachweisempfindlichkeit (um ca. 50% besser).

Diese Vorteile sind unter anderem auf die verbesserte und gleichmäßigere Packung der Schichten mit dem sphärischen Sorbens zurückzuführen.

Stellt sich nun noch die Frage, was uns dieser Vorteil kostet. In 90% aller Fälle nichts, im Gegenteil – LiChrospher-Platten Si 60 F_{254s} sind dieses Jahr um 15% günstiger als die entsprechenden HPTLC-Platten mit irregulär gebrochenem Kieselgel. Hingegen sind gewisse spezielle LiChrospher-Platten, wie Si 60 WRF_{254s} oder RP-18 WF_{254s}, 25–30% teurer als die entsprechenden Platten mit irregulär gebrochenen Sorbentien.

Kennen Sie CAMAG?



CAMAG's neue Homepage – da sollten Sie reinschauen!

Klar, übersichtlich und transparent – treffender könnte man die neue Homepage nicht beschreiben. Sie lädt ein zum Verweilen und informiert anschaulich über den neuesten Stand der Planar-Chromatographie.

In 6 Sektionen gegliedert, finden Sie schnell die Informationen, die Sie suchen:

- Unter Produkte befinden sich Erläuterungen, Hinweise und Details zu den einzelnen Geräten sowie der Überblick über das gesamte CAMAG-Sortiment. Prospekte zu den einzelnen Geräten können auch als .pdf-Datei heruntergeladen werden.
- Unter Support finden Sie u. a. eine allgemeine Beschreibung der Planar-Chromatographie sowie die wertvolle Datenbank CCBS mit über 7500 Abstracts zum kostenlosen Download.
- Über Neuigkeiten und Ereignisse zur Planar-Chromatographie (Kurse, Messen etc.) informiert die Sektion News & Events.
- Die Sektion Services listet Kontaktstellen bei Applikationswünschen auf und informiert über Gerätequalifizierungen (IQ, OQ, PQ).
- Unter Literatur finden sich weiterführende Hinweise.
- Über CAMAG und die weltweiten Vertretungen des Unternehmens kann man sich in der letzten Sektion informieren.

Rundum eine Fülle an wichtigen Informationen, klar strukturiert und sinnvoll gruppiert!

Nehmen Sie sich etwas Zeit und erforschen Sie die Welt der modernen Planar-Chromatographie auf der neuen Homepage von CAMAG.

Die aktuellsten Informationen finden Sie zusätzlich auch in deutscher Sprache. Die deutschen Webseiten informieren hauptsächlich über Neues zu den CAMAG-Produkten, Dienstleistungen, Veranstaltungen und Fortbildungskursen in Deutschland.

CAMAG BIBLIOGRAPHY SERVICE PLANAR CHROMATOGRAPHY

CBS

Liebe Freunde

Vielleicht kennen Sie mich noch aus der Zeit als ich das CAMAG Labor leitete. Seit der letzten Ausgabe habe ich die Redaktion von Herrn Reich übernommen. In Form des CBS möchte ich den Anwender mit einer Fachdatenbank unterstützen, hervorragende Anwendungsbeispiele zur Anregung aufzeigen und über den aktuellen Stand der Geräte-Technik informieren.

Die Literaturabstracts werden von einem qualifizierten, internationalen Referentenkreis gesammelt. Die Datenbank hat so manchem Anwender, der vor einer Methodenentwicklung stand, die ersten Schritte erleichtert. Seit CBS 51 (1983) sind ca. 7500 Abstracts in der planar-chromatographischen Datenbank integriert. Diese Dienstleistung stellt CAMAG als CD-Rom und unentgeltlich als Download (unter www.camag.com) zur Verfügung.

Durch unsere vielfältigen Kundenkontakte fallen uns immer wieder hervorstechende planar-chromatographische Arbeiten auf. Diese möchten wir einem breiten Fachpublikum vorstellen. Immer wieder staunt man über die Leistungsstärke dieser einfachen Trennmethode und vor allem darüber, wie kreativ sie eingesetzt werden kann. Erinnern wir uns an den letzten CBS, an die spektakulären Lipid-Trennungen oder an Ajmalicin, das Prof. Creche et al. durch UV-Bestrahlung zum „Leuchten“ gebracht hat. Er hat sich das in allen Teilschritten vollautomatisierte und GLP konforme off-line-Prinzip zunutze gemacht.

In diesem CBS möchte ich vor allem auf das „Jahr der Chemie“ hinweisen. Die Planar-Chromatographie eignet sich besonders gut, um das Prinzip der Chromatographie an sich zu verdeutlichen.

Herzlichst Ihre

Gerda Morlock

Gerda Morlock

Dear friends

Possibly you remember me from the days when I was heading the CAMAG laboratory. Beginning with the last issue I have taken over the editorship from Eike Reich. By means of the CBS I would like to support the user with a professional database, outstanding examples



of applications and information about the latest development of the technique.

The literature abstracts are collected by a qualified group of international referees. The database has inspired many users, who were faced with method development. Beginning with CBS 51 (1983) about 7500 abstracts have been incorporated into the database. CAMAG offers this service on a CD-ROM and, free of charge, for download from our website www.camag.com.

Through many of our contacts with clients we continue to learn about outstanding work in TLC. This we would like to share with a broad professional audience. One is always surprised by the power of this simple separation technique and particularly by the creativity of its users. Let's recall the last CBS and spectacular lipid separation, or ajmalicine, which Prof. Creche et al. excited by UV light to "glow". He utilized the off-line principle, which is however fully automated and GLP compliant for each step.

In this CBS I would particularly like to emphasize the "Year of Chemistry". Planar chromatography can very effectively demonstrate the principle of chromatography.

Sincerely yours,

Gerda Morlock

Gerda Morlock

CAMAG

MARCH
2004

92

THE CBS CLASSIFICATION SYSTEM

1. **Reviews and books**
 - a) Books on TLC
 - b) Books containing one or several chapters on TLC
 - c) Books containing frequent TLC information spread over several chapters of other information
2. **Fundamentals, theory and general**
 - a) General
 - b) Thermodynamics and theoretical relationship
 - c) Relationship between structure and chrom. behaviour
 - d) Measurement of physico-chemical and related values
 - e) Optimization of solvent systems
 - f) Validation of methods
3. **General techniques** (unless they are restricted to the application within one or two classification sections)
 - a) New apparatus/techniques for sample preparation
 - b) Separation material
 - c) New apparatus for sample application/dosage
 - d) New apparatus/techniques for chromatogram development
 - e) New apparatus/techniques for pre- or post-chromatographic derivatization
 - f) New apparatus/techniques for quantitative evaluation
 - g) New apparatus/techniques for other TLC steps (distinguished from section 4)
4. **Special techniques**
 - a) Automation of sample preparation/application
 - b) Automation of complex chromatogram developing techniques
 - c) Automation, computer application in quantitative chromatogram evaluation
 - d) Combination of TLC with other chromatographic techniques
 - e) Combination of TLC with other (non-chromatographic) techniques...MS, IR...etc.
5. **Hydrocarbons and halogen derivatives**
 - a) Aliphatic hydrocarbons
 - b) Cyclic hydrocarbons
 - c) Halogen derivatives
 - d) Complex hydrocarbon mixtures
6. **Alcohols**
7. **Phenols**
8. **Substances containing heterocyclic oxygen**
 - a) Flavonoids
 - b) Other compounds with heterocyclic oxygen
9. **Oxo compounds, ethers and epoxides**
10. **Carbohydrates**
 - a) Mono- and oligosaccharides, structural studies
 - b) Polysaccharides, mucopolysaccharides, lipopolysaccharides
11. **Organic acids and lipids**
 - a) Organic acids and simple esters
 - b) Prostaglandins
 - c) Lipids and their constituents
 - d) Lipoproteins and their constituents
 - e) Glycosphingolipids (gangliosides, sulfatides, neutral glycosphingolipids)
12. **Organic peroxides**
13. **Steroids**
 - a) Pregnane and androstane derivatives
 - b) Estrogens
 - c) Sterols
 - d) Bile acids and alcohols
 - e) Ecdysones and other insect steroid hormones
14. **Steroid glycosides, saponins and other terpenoid glycosides**
15. **Terpenes and other volatile plant ingredients**
 - a) Terpenes
 - b) Essential oils
16. **Nitro and nitroso compounds**
17. **Amines, amides and related nitrogen compounds**
 - a) Amines and polyamines
 - b) Catecholamines and their metabolites
 - c) Amino derivatives and amides (excluding peptides)
18. **Amino acids and peptides, chemical structure of proteins**
 - a) Amino acids and their derivatives
 - b) Peptides and peptidic proteinous hormones
19. **Proteins**
20. **Enzymes**
21. **Purines, pyrimidines, nucleic acids and their constituents**
 - a) Purines, pyrimidines, nucleosides, nucleotides
 - b) Nucleic acids, RNA, DNA
22. **Alkaloids**
23. **Other substances containing heterocyclic nitrogen**
 - a) Porphyrins and other pyrroles
 - b) Bile pigments
 - c) Indole derivatives
 - d) Pyridine derivatives
 - e) other N-heterocyclic compounds
24. **Organic sulfur compounds**
25. **Organic phosphorus compounds** (other than phospholipids)
26. **Organometallic and related compounds**
 - a) Organometallic compounds
 - b) Boranes, silanes and related non-metallic compounds
 - c) Coordination compounds
27. **Vitamins and various growth regulators** (non-peptidic)
28. **Antibiotics, Mycotoxins**
 - a) Antibiotics
 - b) Aflatoxins and other mycotoxins
29. **Pesticides and other agrochemicals**
 - a) Chlorinated insecticides
 - b) Phosphorus insecticides
 - c) Carbamates
 - d) Herbicides
 - e) Fungicides
 - f) Other types of pesticides and various agrochemicals
30. **Synthetic and natural dyes**
 - a) Synthetic dyes
 - b) Chloroplasts and other natural pigments
31. **Plastics and their intermediates**
32. **Pharmaceutical and biomedical applications**
 - a) Synthetic drugs
 - b) Pharmacokinetic studies
 - c) Drug monitoring
 - d) Toxicological applications
 - e) Plant extracts
 - f) Clinico-chemical applications and profiling body fluids
 - g) Herbal and traditional medicines
33. **Inorganic substances**
 - a) Cations
 - b) Anions
34. **Radioactive and other isotopic compounds**
35. **Other technical products and complex mixtures**
 - a) Surfactants
 - b) Antioxidants and preservatives
 - c) Various specific technical products
 - d) Complex mixtures and non-identified compounds
36. **Thin-layer electrophoresis**
37. **Environmental analysis**
 - a) General papers
 - b) Air pollution
 - c) Water pollution
 - d) Soil pollution
38. **Chiral separations**

XX. (abstract number underlined) refers to HPTLC related publication or application using HPTLC materials

1. Reviews and Books

- 92 001 M. BATHORI*, H. KALASZ, G. JANICSAK, Z. PONGRACZ, J. VAMOS, (*Dept. of Pharmacogn., Univ. of Szeged, Eötvös utca 6, H-6720 Szeged, Hungary): Thin-layer chromatography of phytoecdysteroids. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2629-2649 (2003). Review of planar chromatography of ecdysteroids. Separation of various ecdysteroids is detailed using both straight-phase and reversed-phase thin-layer chromatography. The generally used special techniques, such as two-dimensional TLC, forced-flow TLC, displacement mode of development, etc., are also specified. The particular behavior of certain ecdysteroids is discussed. Materials and methods frequently used for ecdysteroid separation are described like e.g. stationary phases, mobile phases, detection methods, screening and identification of plant ecdysteroids, analysis of 20-hydroxyecdysone through the vegetation of plants, lipophilicity of ecdysteroids, analysis of ecdysteroids on RP-TLC plates, FF-TLC, AMD, 2D-TLC, displacement TLC, and hyphenated techniques.

Biochemistry

01

2. Fundamentals, Theory and General

- 92 005 N.U. PERISIC-JANJIC*, B. LUCIC, D. AGBABA, (*Inst. of Chem., Fac. of Sci., Trg Dositeja Obradovica 3, 21000 Novi Sad, Serbia and Montenegro): Study of lipophilicity and retention behavior of some beta-adrenoceptor antagonists. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 369-375 (2003). TLC of betaxolol HCl, propranolol HCl, celiprolol HCl, oxprenolol, karvedilol, metoprolol tartrate, and atenolol on RP-18 with water - acetonitrile and water - dioxane in different concentrations. Visualization under UV 254 nm.

Pharmaceutical research, qualitative identification

02

- 92 002 M. JANICKA*, J.K. ROZYLO, (*Fac. of Chem., Maria Curie-Skłodowska Univ., Maria Skłodowska Sq. 3, 20-031 Lublin, Poland): OPLC and TLC in the prediction of retention factors of solutes in pure water. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 13-23 (2003). TLC of newly synthesized benzanilides, benzamide and a group of pesticides on RP-18 with aqueous solutions of acetonitrile or methanol with different organic modifier concentrations. Visualization under UV 254 or 366 nm.

02

- 92 003 B. OSZIK-MENDYK, (Fac. of Chem., Dept. of Planar Chromatography, Maria Curie-Skłodowska Univ., Maria Curie-Skłodowska Sq. 3, 20-031 Lublin, Poland): LC in studies on molecular interactions in mobile phase. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 347-355 (2003). Discussion of a model of chromatographic process which takes into account molecular interactions in mobile phase. TLC of i.e. 2-, 3-, 4-nitroaniline, 4-nitro-2-, 2-nitro-4-, 5-nitro-2-toluidine, 2-, 3-nitrotoluene, 2-, 4-chlorophenol, 2-, 4-nitrophenol, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-dichlorophenol, and naphthalene on silica gel with benzene - acetone, benzene - methanol, carbon tetrachloride - ethyl acetate, and toluene - isopropanol.

Theoretical considerations

02

- 92 053 N.U. PERISIC-JANJIC et al., see section 24

- 92 004 N.U. PERISIC-JANJIC*, B.Z. JOVANOVIĆ, O.S. RAJKOVIĆ, D.G. ANTONOVIĆ, (*Inst. of Chem., Fac. of Sci., Trg Dositeja Obradovica 3, 21 000 Novi Sad, Serbia and Montenegro): Correlation of retention behavior of some newly synthesized s-triazine derivatives in various RP-TLC systems. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 363-368 (2003). HPTLC of triazine derivatives (2,4-bis(cyclopropylamino)-6-chloro-s-triazine, 2,4-bis(cyclo-dodecyl-amino)-6-chloro-s-triazine) on RP-18 and on silica gel, impregnated with paraffin oil, with water - acetone. Visualization under UV 254 nm.
Qualitative identification, s-triazine derivatives 02
- 92 006 M. SAJEWICZ, A. PIENIAK, R. PIETKA, K. KACZMARSKI, T. KOWALSKA, (Inst. of Chem., Silesian Univ., 9, Szkolna Street, 40-006 Katowice, Poland): A densitometric comparison of solute retention in the classical and sandwich-type chromatographic chambers. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 399-405 (2003). TLC of 4-phenyl-1-butanol, 5-phenyl-1-pentanol, 3-phenylpropionic acid and 3-phenylbutyric acid on cellulose with i.e. decalin in the classical chamber of Stahl-type and the sandwich-type. Densitometry at 260 nm in reflectance mode. It was clearly demonstrated that, under the conditions used, the sandwich-type chamber can by no means be considered as superior to the Stahl-type chamber.
Densitometry, comparison of chromatographic conditions 02
- 92 007 M. WAKSMUNDUKA-HAJNOS, A. PETRUCZYNIK, A. HAWRYL, (*Dept. of Inorg. and Anal. Chem., Med. Univ., Staszica 6, 20-081 Lublin, Poland): Polar bonded stationary phases, their chromatographic properties and use in TLC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 75-88 (2003). Characterization of CN-, diol-, amino-, and RP-modified silica gel by e.g. LSER parameters, solid surface free energy components, RM vs. RM correlations, quantitative structure - retention relationships (QSRR), and retention - modifier concentration relationships.
Biology, characterization of sorbents 02

3. General Techniques

- 92 008 V. COMAN, S. KREIBIK, ('Raluca Ripan' Inst. for Res. in Chem., 30 Fântânele Street, P.O. Box 702, RO-400294 Cluj-Napoca, Romania): Planar dielectrochromatography - a perspective technique. J. Planar Chromatogr. **16**, 338-346 (2003). In normal TLC migration of the mobile phase through the layer is controlled by capillary forces. The velocity and migration distance of the mobile-phase front in porous media can be increased by application of an external electric field. This effect is observed i.a. on different TLC plates developed with non-polar and polar solvents. As a result the separation of some compounds was improved. This method is a hybrid of electric forced flow and classical TLC; it was named 'planar dielectrochromatography' (PDEC). TLC of lipophilic dyes on aluminium oxide and silica gel with benzene. Also TLC of a hydrophilic test dye mixture on cellulose with propanol - water - ethyl acetate 6:3:1.
Planar dielectrochromatography 03
- 92 009 V. COMAN, S. KREIBIK, ("Raluca Ripan" Inst. for Res. in Chem., 30 Fântânele Street, P.O. Box 702, 3400 Cluj-Napoca, Romania): Planar electrochromatography - a perspective technique. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 89-109 (2003). The velocity and migration distance of the mobile-phase front in porous media, in normal TLC practice controlled by capillary forces, can be increased by application of an external electric field. The effect is observed on different TLC plates developed with non-polar and polar solvents. As a result the separation resolution of some compounds was improved. The

method, a hybrid of electric forced flow and classical TLC, was named "planar dielectrochromatography" (PDEC).

Electrochromatography, electric forced flow

03

92 010 K. DEAK, SZ. NYIREDY*, (*Res. Inst. for Med. Plants, Lupaszigeti út 4, 2011 Budakalász, Hungary): Comparison of on-line injection and off-line sample application as well as on-line and off-line detection using continuous development HPTLC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 211-221 (2003). Description of the applications of continuous development HPTLC techniques combining on-line and off-line chromatographic principle steps (sample application, separation and detection). Fully on-line combination of off-line sample application and on-line detection as well as fully off-line methods are compared by separating Test Dye Mixture III and furocoumarin isomers. HPTLC of Test Dye Mixture III on silica gel with toluene and different compositions of toluene and chloroform mixtures 9:1, 15:3, 4:1 and HPTLC of furocoumarin isomers on silica gel with ether - dichloromethane - tetrahydrofuran - hexane 10.71:9.68:7.5:72.11, diluted with 50%, 75%, and 100% hexane. All experiments were performed in a further developed prototype apparatus. Detection by densitometry in a range of 200 -1000 nm.

03

92 011 T.H. DZIDO*, R. MAJEWSKI, (*Dept. of Inorg. and Anal. Chem., Med. Univ., Staszica 6, 20-081 Lublin, Poland): Planar electrochromatography in horizontal chamber with cooling of the chromatographic plate. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 129-138 (2003). Conventional HPTLC of aromatic hydrocarbons with polar groups (2-naphthol, 1-nitro-naphthalene, 1,7-dihydroxynaphthalene, 2-ethylanthraquinone, 4-nitroaniline, anthraquinone) and dyes (1-aminoanthraquinone, fat brown, 4-diethylaminoazobenzene, 4-hydroxybenzene-azonaphthol-2, 4-(4-(N,N-ethylethanol)benzeneazo)-N-methylphthalimide, 4-nitroaniline) on RP-18 with e.g. 90% methanol in pH 10 buffer (diluted 1:7 with water) or acetonitrile - buffer in a presaturated horizontal chamber. Planar electrochromatography was performed under similar conditions with the exception of e.g. using plates with 0.5 cm margins of paraffin oil along their longer parallel edges and pre-wetting after spotting of the sample with mobile phase from both sides leaving within approximately 1 mm dry zone of start spot position. Then the chromatographic plate was pressed face-to-face with a counter-plate using clips. 200-250 V/cm field was applied to the plate. Higher efficiency and shorter development time of electrochromatography systems relative to conventional TLC separations were demonstrated.

Quantitative analysis, densitometry, qualitative identification,
aromatic hydrocarbons

03

92 012 M. FILIP, V. COMAN, R. GRECU, Z. MOLDOVAN, ("Raluca Ripan" Inst. for Res. in Chem., 30 Fântânele Street, P. O. Boc 702, 3400 Cluj-Napoca, Romania): Characterisation of some chemically modified acidic alumina samples for TLC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 231-242 (2003). Preparation and characterization of octadecyl-, 3-mercaptopropyl-, and N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl modified alumina by elemental analysis, specific surface area, FTIR spectroscopy, mass spectrometry and thermal analyses. The TLC behavior of unmodified and modified acidic alumina was tested for the separation and identification of some dyes and benzo[a]pyrene derivatives.

03

92 013 G. GRYGIERCZYK*, W. KLIMCZOK, D. LOMNKIEWICZ, (*Inst. of Chem., 9 Szkolna Street, 40-006 Katowice, Poland): Study on the influence of physico-chemical modification of chemically bonded stationary phases on the retention mechanism of selected organic compounds. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 251-255 (2003). TLC

of lauric, myristic, palmitic, stearic, and arachidic acid and lauryl, myristyl, palmityl, stearyl, and arachyl alcohols on silica gel, RP-2, RP-8, and RP-18, impregnated with 1, 5, and 10% solutions of squalane and octadecane in hexane, with methanol - water 39:1. Detection by exposure to iodine vapor.

Retention mechanism of fatty alcohols, impregnated phases 03

- 92 014 J.M. KOERS, M.A. CARMICHAEL, A.L. NOVOTNY, J.J. KOSIBA, D. NUROK, G.L. HAWKINS, R.W. REPLOGLE, R.E. SANTINI, (Dept. of Chem., Indiana Univ. Purdue Univ. Indianapolis, 402 North Blackford Street, Indianapolis, IN 46202, USA): Performance of planar electrochromatography at elevated pressure. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 123-128 (2003). TLC by Pressurized Planar Electrochromatography (PPEC) of 4-cholesten-3-one, 17 α -acetoxyprogesterone, 2'acetonaphthone, benzanilide, and o-nitroaniline on RP-18 with 55% aqueous acetonitrile containing 50 mM acetate buffer at a nominal pH of 4.5. The applied potential was 6 kV, and the pressure was elevated. Details are omitted based on the current patent application and intellectual property considerations. Improved new technique.

Pressurized Planar Electrochromatography (PPEC) 03

- 92 015 M. LAN, D. WANG*, W. WEI, W. LU (*Dept. of Anal. Chem., Shenyang Pharm. Univ., Shenyang 110016, P. R. China): Multidimensional relay development in TLC. J. Planar Chromatogr. **16**, 461-464 (2003). TLC of 13 dyes (light yellow G, acid red B, disperse deep blue H-GL, disperse scarlet BWFL, disperse orange 2BFL, disperse balas 2GFL, disperse blue BGL, disperse red 3B, disperse yellow 54, disperse turquoise GL, 10GN disperse fluorescent yellow, S-BGL disperse blue, and 2B disperse black) on silica gel (5 x 40 cm; layer thickness approx. 0.5 mm) with a new mode of 'multidimensional relay' development. Multidimensional relay development with the half-way development device transfers unseparated spots to a new TLC plate on the basis of the first separation, then re-develops this new plate.

Multidimensional relay development 03

- 92 016 M. LAN, D. WANG*, J. HAN, (*Dept. of Anal. Chem., Shenyang Pharm. Univ., Shenyang, 110016 (or 110015), P. R. China): A new distributor for half-way development. J. Planar Chromatogr. **16**, 402-404 (2003). Description of a new distributor which can be used more perfectly for 'half-way development' consisting of two microscope slides which are specially treated and glued together like a funnel. Mixtures of dyes have been used to verify this supposition, with satisfactory results. TLC of 5 dyes on silica gel (400 mm x 55 mm plates) with cyclohexane - ethyl acetate 3: 1 and cyclohexane - ether 3:1.

03

- 92 017 M. MANACH, S. LAROCHE, C. TRUCHY, D. PAPILLARD, E. MINCSOVICS, (OPLC-NIT Ltd., Andor u. 60, 1119 Budapest, Hungary): Parallel purification of synthetic molecules and plant extracts using optimum performance laminar chromatography (OPLC). Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 153-161 (2003). Optimum Performance Laminar Chromatography (OPLC) is a liquid chromatography technique using planar sorbent beds of low thickness (200 to 500 μ m) in which the eluent is injected under pressure allowing parallel separation of samples. OPLC separation and isolation of a mixture of synthesized molecules and plant extract on planar sorbent beds (HTSorb) sealed on 4 edges on silica with e.g. 1)toluene or dichloromethane - ethyl acetate and on 2) RP-18 with a gradient water - acetonitrile 13:7 to 1:1 in 18 min or hexane - ethyl acetate from 99:1 to 1:99. The HTSorb were equilibrated before their use with the starting solution. Detection with optic fibers and Diode Array Detector (200-600 nm). New technique for chromatogram development.

Optimum Performance Laminar Chromatography, HTSorb 03

- 92 018 E. MINCSOVICS, M. MANACH, D. PAPILLARD,. (Bionisis-OPLC, 18-20 Ave Edouard Herriot, F-92 350 Le Plessis Robinson, France): Flowing eluent wall as a tool of parallel on-line OPLC separations on non-segmented sorbent bed. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 163-178 (2003). Application of a new concept, the process of flowing eluent wall (FEW), for single and multi-channel on-line overpressured layer chromatography (OPLC) separation with non-segmented sorbent bed for operating segmentation. OPLC of dyes, chamomile oil, ascorbigen, and homogenized cabbage on silica gel with different mixtures of hexane - ethyl acetate, chloroform - methanol - acetic acid 90:10:1. Derivatization with freshly prepared vanillin-sulfuric acid reagent or 10% molybdatophosphoric acid in n-propanol (120°C for 5 min). Detection under UV 254 and 285 nm.
Multi-channel on-line overpressured layer chromatography 03
- 92 019 E. MINCSOVICS*, M. MANACH, L. KECSKES, B. TAPA, D. PAPILLARD, E. TYIHAK, (*OPLC-NIT, Ltd. , Andor u. 60, H-1119 Budapest, Hungary): Single- and multi-channel OPLC separation on non-segmented sorbent bed using flowing eluent wall for operating segmentation. J. Liq. Chrom. & Rel. Technol. **26**, 2611-2627 (2003). A new OPLC separation procedure has been developed for single- and multi-channel separation using a non-segmented sorbent bed and flowing eluent wall (FEW) for operating segmentation. The FEW detaches the sorbent bed into active and non-active parts regarding separation during the process. Only mobile phase is introduced into the non-active part, while, for the active part, eluent and also the sample can be admitted, thus the non-homogeneous part of the sorbent is excluded from the separation process. OPLC of ascorbigen, cabbage extract and a dye mixture on silica gel with e.g. chloroform - methanol - acetic acid 90:10:1 resp. toluene. Detection under UV 285 nm.
Forced flow 03
- 92 020 S. NYIREDY, (Res. Inst. for Med. Plants, Lupaszigeti út 4, 2011 Budakalász, Hungary): Advancement in forced-flow planar separations. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 41-60 (2003). Summary of the progress in forced-flow planar separations (FFPS) and demonstration of the importance of the different forced-flow planar chromatographic (FFPC) techniques like rotation planar chromatography (RPC), overpressured layer chromatography (OPLC), and electro-planar chromatography (EPC) as well as rotation planar extraction (RPE). Special attention was paid to a novel analytical forced-flow high-performance (HP) thin-layer chromatographic (TLC) method, in which continuous development and evaporation of the mobile phase from the end of the chromatographic plate ensure forced-flow development.
Comparison of methods, 03
- 92 021 C. SCHÄFER*, H.-E. HAUCK, M. SCHULZ, (*Merck KGaA, Analytics and Reagents, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany): New stationary phases for planar chromatography: Ultra-thin monolithic silica and ultra-bright TLC layers. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 71-74 (2003). Ultra-thin layers exhibit a thickness of 10 μm and consist of monolithic silica eliminating the need for a binder to fix the layer on the glass surface of a plate resulting in the combination of short migration distances, fast development times, and extremely low eluent consumption. LuxPlate, a new TLC plate, is characterized by a higher amount of fluorescent indicator and are twice as bright under UV light when compared to conventional TLC plates.
Quantitative analysis, qualitative identification, ultra-thin layers 03
- 92 024 B. SPANGENBERG et al., see section 5
- 92 025 B. SPANGENBERG et al., see section 5 03

- 92 022 K. TYRPIEN*, R.R. SCHEFER, S. BACHMANN, K. ALBERT, (*Med. Univ. of Silesia, Jordana 19, 41808 Zabrze, Poland): Development and application of new C30-modified TLC plates. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 256-262 (2003). TLC of α -, β -, γ -, δ -tocopherol and α -tocopherol acetate on silica gel and RP-18 and 30 modified silica gel. The polymeric C30 bonded phase was prepared by chemical modification of LiChrospher WP 120 silica (3 μm particle size and 120 \AA average pore diameter, research sample, Merck) with triacetyltrichlorosilane by a procedure described by M. Pursch et al., *Anal. Chem.* **68**, 386-393 (1996) and L.C. Sander et al., *Anal. Chem.* **66**, 1667-1674 (1994). Chromatography was performed in a horizontal chamber with methanol as mobile phase. Quantitation by densitometry at 280 nm. Results showed that the new TLC phase can be used for rapid separation of a tocopherol mixture; these new plates could therefore be of great interest for rapid, high-throughput screening.
- New stationary phase, C30, tocopherol 03

4. Special Techniques

- 92 023 M. PROSEK, A. GOLC-WONDRA, I. VOVK, S. ANDRENESEK, (Nat. Inst. of Chem., Hajdrihova 19, 1001 Ljubljana, Slovenia): On-line TLC-MS. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 149-152 (2003). Description of an on-line system which provides computer controlled elution of spots from the TLC plate and injection of the eluted substances into MS. All flexibility of TLC is retained, small fraction of MS working time is needed, and any spot on an unlimited number of plates can be selected.
- On-line TLC-MS 04

5. Hydrocarbons and Halogen Derivatives

- 92 024 B. SPANGENBERG*, K. LORENZ, S. NASTERLACK, (*Univ. of Appl. Sci. Offenburg, Badstrasse 24, DE-77652 Offenburg, Germany): Fluorescence enhancement of pyrene measured by thin-layer chromatography with diode-array detection. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 331-337 (2003). Literature recommends dipping TLC plates in viscous liquids to enhance fluorescence. Measurement of the fluorescence and absorbance spectra of pyrene spots reveals the mechanism of enhancement of plate dipping in viscous liquids - blocked contact of the fluorescent molecules with the stationary phase or other sample molecules is responsible for the enhanced fluorescence at lower concentrations. TLC and HPTLC of pyrene on silica gel and on RP-18 with methanol - acetone 8:3. The dipping solution was prepared by dissolving 3.8 g pentane sulfonic acid in 20 mL water. Densitometry in the range of 198 to 610 nm.
- Densitometry, fluorescence enhancement 05
- 92 025 B. SPANGENBERG*, K. LORENZ, S. NASTERLACK, (*Univ. of Appl. Sci. Offenburg, Badstrasse 24, DE-77652 Offenburg, Germany): Fluorescence lifetime measurements of pyrene on HPTLC plates. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 3-11 (2003). HPTLC of pyrene on silica gel with hexane and on RP-18 with methanol - acetone 8:3 in a horizontal developing chamber. Densitometry at 198 to 610 nm after dipping in a solution of 3.8 g pentane sulfonic acid in 20 mL water.
- Densitometry, pyrene 05

6. Alcohols

92 006 M. SAJEWICZ et al., see section 2

7. Phenols

92 026 T. CSERHATI, E. FORGACS*, (*Inst. of Chem., Chem. Res. Centre, Hungarian Acad. of Sci., P.O. Box 17, 1525, Budapest, Hungary): Effect of pH and salts on the binding of ring-substituted phenol derivatives to the corn protein zein, studied by thin-layer chromatography. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2303-2313 (2003). Study of the interaction of seven ring-substituted phenol derivatives with the corn protein zein by RP-TLC carried out on zein-impregnated cellulose layers, and determination and elucidation of the effect of pH and salts on the strength and selectivity of the interaction by using spectral mapping techniques (SPM) and stepwise regression analysis. (SRA). TLC of 4-nitro-, 4-amino-, 2-amino-, 3-amino-, 3-hydroxy-, 4-cyano-, and 2,6-dimethoxyphenol on zein-impregnated cellulose, prepared by dissolving 1.0 g zein in the mixture of 160 mL of n-propanol and 40 mL of water at 70°C. After the dissolution of the protein, 20 g of microcrystalline cellulose was added and the mixture was stirred for 3 h at the same temperature. Solvents have been removed at 70°C in vacuum. Plates of 20 x 20 cm containing 5 g of stationary phase have been prepared. TLC with distilled water and i.a. 0.16 M aqueous solutions of acetic acid, sodium acetate, sodium chloride, calcium chloride, and magnesium chloride. Detection by exposure to iodine vapor.

Pharmaceutical research, qualitative identification, 4-nitro-, 4-amino-, 2-amino-, 3-amino-, 3-hydroxy-, 4-cyano-, and 2,6-dimethoxyphenol 07

92 027 H. MAJSTOROVIC, D. RATKOV-ZEBELJAN, Z.L. TESIC, D.M. MILOJKOVIC-OPSENICA*, (*Fac. of Chem., Univ. of Belgrade, P.O. Box 158, 11 001 Belgrade, Serbia and Montenegro): Interpretation of the mechanisms of chromatographic separation on CN-silica. Part II: TLC of some phenols. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 297-303 (2003). Study of the chromatographic behavior of 9 phenols (phloroglucinol, 2-aminophenol, 4-hydroxybenzaldehyde, 4-methoxyphenol, salicylic acid, phenol, 4-tert-butylphenol, 2,4-dichlorophenol, 2,6-dimethylphenol) on CN-modified silica gel, silica gel and polyacrylonitrile sorbent with 14 mobile phases. Detection by spraying with 0.05% ethanolic fluorescein solution and under UV 356 nm.

Qualitative identification, phenols 07

8. Substances Containing Heterocyclic Oxygen

92 082 Z. JANECKO et al., see section 32

92 028 I. MALINOWSKA, M. KRAUZE-BARANOWSKA*, (*Dept. of Pharmacogn., Med. Univ. of Gdansk, Gen. J. Hallera str. 107, 80-416-Gdansk, Poland): Separation of some flavonoids by use of the Prisma model and forced-flow planar techniques. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 305-307 (2003). TLC of flavonoids (7-O-glucoside luteolin, 7-O-glucoside apigenine, 5'-O-glucoside tricetin, 3-O-rhamnoside quercetin, 3-O-rhamnoside kaempferol, luteolin, quercetin, kaempferol, isoginkgetin, ginkgetin) on silica gel in a sandwich chamber, in a Personal OPLC chamber, and by planar electrochromatography method with 11 monocomponent, 8 binary phases in different concentration, and ternary

and quaternary mobile phases. The best separation of flavonoids, biflavones, aglycones, glycosides was obtained with ethanol - ethyl acetate - dioxane - hexane (as solvent strength modifier).

Herbal, flavonoids

08

10. Carbohydrates

92 029 B. SPANGENBERG*, J. SROKA, I. ARRANZ, E. ANKLAM, (*Univ. of Applied Sci. Offen- burg, Badstrasse 24, D-77652 Offen- burg, Germany): A simple and reliable HPTLC method for the quantification of the intense sweetener sucralose[®]. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2729-2739 (2003). HPTLC of sucralose[®] (4-chloro-4-deoxy- α -D-galactopyranosyl-1,6-dichloro-1,6-dideoxy- β -D-fructofuranoside) on amino-bonded silica gel with acetonitrile - water 4:1. Subsequently, the wet plate was heated for 20 min at 190°C in an oven result- ing in the formation of a brilliant fluorescent spot. Inspection under UV 365 nm directly or after dipping for 5 s in a cetyl-trimethylammonium bromide solution (5 g in 100 mL methanol), which resulted in fluorescent enhancement by a factor of two. Quantitation by measurement either in the absorption or fluorescence mode. Excellent repeatability (RSD = 3.4%) and recovery (95%).

Food analysis, quantitative analysis, densitometry, sucralose[®]

10

92 030 I. VOVK*, B. SIMONOVSKA, L. KOMPAN, M. PROSEK, (*Nat. Inst. of Chem., Lab. for Food Chem., Hajdrihova 19, SI-1000 Ljubljana, Slovenia): TLC determination of mannitol and lactulose on amino HPTLC plates. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 374-376 (2003). HPTLC of mannose and lactulose from urine on amino-modified silica gel with acetonitrile - water 7:3. After drying the plates were heated at 170°C for 20 min. Determination of lactulose by densitometry at 366 nm. Visualization after dipping into paraffin - hexane 1:2, and dry- ing for 5 min at 100°C. The plate was immersed in three detection reagents: 1 L 0.1 mol/L AgNO₃ and 200 mL acetone for 2 s, drying in air; 4 g NaOH in 4 mL water and 200 mL methanol for 2 s, drying for 2 min at 100°C; 20 g sodium thiosulfate dissolved in 100 mL water and 100 mL ethanol for 6 s, drying for 2 min at 100°C. Determination of mannitol by densitometry in absorbance mode at 660 nm.

Clinical chemistry research, quantitative analysis, densitometry, mannose, lactulose

10

11. Organic Acids and Lipids

92 031 T. HAYAKAWA, M. HIRAI* (*Dept. of Phys., Gunma Univ., 4-2 Aramaki, Maebashi 371- 8510, Japan): An assay of ganglioside using fluorescence image analysis on a thin-layer chromatography plate. *Anal. Chem.* **75**, 6728-6731 (2003). Fluorometric method for the determination of quantities of gangliosides ranging from pico- to nanomoles. HPTLC of sugars (D-(+)-glucose, D(+)-galactose, D(+)-fructose, N-acetyl-D-galactosamine, N-acetyl- D-glucosamine, N-acetyl-neuramic acid) and gangliosides (GM1, asialoGM1, GD1a, GT1b) on silica gel, prewashed with methanol - chloroform 1:1, with chloroform - methanol - 0.2% CaCl₂ (aq) 60:35:8 as solvent system in a well-saturated TLC chamber. Detection by spraying with 18% hydrochloric acid thoroughly drying at 40°C in an drying oven and heating for 12 min at various temperatures (from 50 to 180°C). The fluorescence (UV 365 nm) of each sample was greatly dependent on the heating temperature. Calibration curves for gangliosides were obtained by HPTLC and an image-analyzing system equipped with a CCD camera and they showed a high linearity in a wide range from 47 pmol to 4.5 nmol. New and simple procedure.

Quantitative analysis, biochemistry

11

- 92 032 H.P. KORNENA, H.A. BUTINA, E.O. GERASIMENKO, H.V. GRUSHENKO, V.V. NOSACHOVA, A.Y. BUDUNOVA, B.M. SOGOLOVSKY*, (Kuban State Techn. Univ., Moskovskaya 2, 350072, Krasnodar, Russia): Use of TLC modern methods for the research of phospholipid products. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 267-273 (2003). TLC of phospholipids (i.a. phosphatidylinositols, -cholines, -serines, -ethanolamines, -glycerines, neutral lipids) on silica gel with chloroform - methanol - water 65:25:4 and chloroform - methanol - acetic acid 65:25:8. After drying 5% phosphomolybdic acid was used for spraying or immersion; also iodine vapor, Dragendorff, butanolic ninhydrin solution and ammoniacal silver nitrate solution. Quantitation by densitometry. Effective quantitative analysis.
Clinical chemistry research, quantitative analysis, densitometry, phospholipids 11
- 92 033 M. KOZYRA*, K. GLOWNIAK, A. ZADUBIEC, (*Dept. of Pharmacogn., Med. Univ., 12 Peowiaaków St., 20-007 Lublin, Poland): Phenolic acids in the herb, fruits and roots of *Peucedanum verticillare* L. Koch ex DC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 274-283 (2003). TLC of phenolic acids (e.g. p-coumaric, chlorogenic, hydroxybenzoic, isovanillic, caffeic, rosmarinic, syringic, vanillic, protocatechuic, ferulic, γ - and β -resorcylic and gentisic acid) on cellulose with toluene - sodium ethyl - formic acid 5:4:1, sodium formate - formic acid - water 10:1:200, and 15% aqueous acetic acid. After preconditioning with benzene - methanol - acetic acid 94:1:5 for 2D-TLC with benzene - methanol - acetic acid - acetonitrile 16:2:1:1 in the first direction and sodium formate - formic acid - water 10:1:200 in the second direction. Examination under UV 254 and 366 nm. Visualization with 3% methanolic solution of iron(III) chloride, diazotized sulfanilic acid in 20% sodium carbonate solution 1:1.
Herbal, phenolic acids 11
- 92 034 J. NOWAKOWSKA*, M. MARSZALL, (*Med. Univ. of Gdansk, Fac. of Pharm., Dept. of Phys. Chem., Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdansk, Poland): Retention properties of rosmarinic and valerenic acids on an amino-modified hydrophilic layer. J. Planar Chromatogr. **16**, 369-373 (2003). TLC of rosmarinic acid and valerenic acid on amino-modified silica gel with 8 binary phases (methanol - water, ethanol - water, propanol - water, acetonitrile - water, THF - water, acetonitrile - buffer, and methanol - buffer), in which the concentration of organic modifier varied from 0 to 100%, with chamber saturation at 20°C. Visualization by spraying with sulfuric acid conc. - methanol 1:10 and heating for 10 min at 120°C. Visualization under UV.
Pharmaceutical research, qualitative identification, rosmarinic acid, valerenic acid 11
- 92 035 A. PYKA*, K. BOBER, (*Silesian Acad. of Med., Fac. of Pharm., Dept. of Anal. Chem., 4 Jagiellonska Street, PL 42-200 Sosnowiec, Poland): Investigation of a homologous series of fatty acids by TLC. Part III. Application of terms describing the separation of homologous series of saturated fatty acids in TLC. J. Planar Chromatogr. **16**, 303-307 (2003). HPTLC of 19 fatty acids (from pentanoic to tricosanoic acid) on RP-18, with and without concentrating zones. The best chromatographic conditions for separation were on RP-18 without concentrating zone with methanol - water 9:1, 19:1 and ethanol - water 9:1, and on RP-18 with concentrating zone with methanol - water 9:1 and 19:1, 100% ethanol and ethanol - water 9:1 and 19:1. Visualization by exposure to iodine vapor. Optimization of separation conditions.
Qualitative identification, fatty acids 11

- 92 036 A. PYKA*, K. BOBER, (*Dept. of Anal. Chem., Fac. of Pharm., Silesian Acad. of Med., 4 Jagiellonska Str., PL-41-200 Sosnowiec, Poland): Investigation of an homologous series of fatty acids by TLC. II. Comparison of separation of fatty acids on RP-18 plates with different mobile phases. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2663-2671 (2003). TLC of fatty acids (octa-, nona-, deca-, undeca-, dodeca-, trideca-, tetradeca-, pentadeca-, hexadeca-, heptadeca-, and octadecanoic acid) on RP-18 (with and without concentrating zones). Visualization by exposure to iodine vapor. The best separation of the acids investigated was obtained on RP-18 with a concentrating zone, and methanol - water 19:1.
Systematic investigation 11

- 92 006 M. SAJEWICZ et al., see section 2

- 92 037 J.L. SCHNECK, B. FRIED*, J. SHERMA, (*Dept. of Biol., Lafayette Coll., Easton, PA 18042, USA): High-performance thin-layer chromatographic analysis of lipids in juvenile *Helisoma trivolvis* (Colorado strain) maintained on a hen's egg yolk diet. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 405-407 (2003). HPTLC of neutral lipids (e.g. cholesteryl oleate, methyl oleate, triolein, oleic acid, and cholesterol) on silica gel (with prescored lanes), after prewashing with dichloromethane - methanol 1:1, for the methyl ester, triacylglycerol, free fatty acids, and free sterol content with petroleum ether - ether - acetic acid 80:20:1 and for cholesteryl esters with hexane - petroleum ether - ether - acetic acid 50:25:5:1. Development in a presaturated chamber at 22°C and a humidity of 50%. Visualization by spraying with a solution of 5 g phosphomolybdic acid in 100 mL absolute ethanol and heating for 10 min at 115°C. TLC of polar lipids (cholesterol, phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, and lysophosphatidylcholine) on silica gel with chloroform - methanol - water 65:25:4. Visualization by spraying with a 10% cupric sulfate solution (prepared by dissolving 100 g CuSO₄ and 100 mL phosphoric acid in water and making up to 1 L), followed by heating for 10 min at 140°C. Quantitative densitometry at 610 nm for neutral lipids and at 370 nm for polar lipids.
Biochemistry 11

13. Steroids

- 92 001 M. BATHORI et al., see section 1

- 92 038 A. BETERINGHE, I. BACIU, M.T. CAPROIU, T. CONSTANTINESCU, A.T. BALABAN*, (*Texas A&M Univ. at Galveston, Galveston, TX 77553-1675, USA): O-Methyloximes of testosterone and of 17 α -methyltestosterone: TLC and QSPR study of RF values. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 268-270 (2003). TLC of the Z and E diastereomers of the O-methyloximes of testosterone and 17 α -methyltestosterone on silica gel with ether - petroleum ether (30-60°C) 1:1. The RF values of these compounds could be rationalized by a quantitative structure-property relationship (QSPR) using one topological/topographical index.
Qualitative identification, biomedical application, O-methyloximes of testosterone, 17 α -methyltestosterone 13

- 92 039 A. PYKA*, M. DOLOWY, (*Dept. of Anal. Chem., Fac. of Pharm., Silesian Acad. of Med., 4 Jagiellonska Street, PL-41-200 Sosnowiec, Poland): Lipophilicity of selected bile acids as determined by TLC. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2741-2750 (2003). HPTLC of bile acids (cholic, chenodeoxycholic, deoxycholic, lithocholic, glycocholic, glycodeoxycholic, and glycolithocholic acid) on RP-18 with mixtures of methanol - water. The methanol content was varied by 5% volumes from 60% to 100%. Detection after drying at room temperature by spraying with a 10% solution of sulfuric acid in water and heating at 120°C for 20 min.

The retention parameters RMW may be used as a measure of lipophilicity of the investigated bile acids.

Qualitative identification, bile acids 13

14. Steroid Glycosides, Saponins and Terpenoid Glycosides

92 040 X.-L. CAO, Y. TIAN, T.-Y. ZHANG*, Q.-H. LIU, L.-J. JIA, Y. ITO, (*Beijing Inst. of New Techn. Appl., Xizhimen South Street, No. 16, Beijing 100035, P. R. China): Separation of dammarane-saponins from *Notoginseng*, root of *Panax notoginseng* (Burkh.) F.H. Chen, by HSCCC coupled with evaporative light scattering detector. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 1579-1591 (2003). TLC of ginsenoside-Rg1, ginsenoside-Re, notoginsenoside-R1 on silica gel with chloroform - methanol - 2-butanol - water 5:6:1:4 and ethyl acetate - 1-butanol - water 1:1:2. Detection under UV.

Pharmaceutical research, qualitative identification, ginsenosides 14

92 041 Y. IKEDA*, Y. FUJII, (*Fac. of Pharm. Sci., Hokuriku Univ., Ho-3, Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan) Quantitative determination of lanatosides in the hybrid *Digitalis ambigua* x *Digitalis lanata* leaves by HPLC. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2013-2021 (2003). (1994). Quick and simple TLC procedure of lanatoside A, B, C, desacetyl lanatoside A, 14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodesacetyl-lanatoside on silica gel with chloroform - methanol - water 32:8:1 and on RP-18 with acetonitrile - 0.5 M sodium chloride 10:13. Detection by spraying with concentrated sulfuric acid, and heating at 120°C for 10 min.

Pharmaceutical research, qualitative identification, lanatoside A, B, C, desacetyl lanatoside A, 14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodesacetyl-lanatoside 14

92 042 A. LUDWICZUK*, T. WOLSKI, S. NYIREDY, (*Dept. of Pharmacogn., Med. Univ., Peowia-kow 12, 20-007 Lublin, Poland): Circular and linear OPLC of ginsenosides in *Panax quinquefolium* L. cultivated in Poland. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 291-296 (2003). TLC, HPTLC and OPLC of ginsenosides (e.g. Rb 1, Rc, Re, Rd, Rg1, and Rg 2) on normal and HPTLC silica gel with chloroform - methanol - ethyl acetate - water 15:22:40:9 (I) and chloroform - methanol - ethyl acetate - water - hexane 10:11:30:4:2 (II). Mobile phase II gave better results for circular and linear forced-flow OPLC. Visualization by spraying with Godin's reagent (5% sulfuric acid in ethanol and 1% vanillin in ethanol) and heating at 105°C for 10 min. Quantitation by densitometry at 540 nm.

Herbal, qualitative identification, ginsenosides 14

15. Terpenes and other Volatile Plant Ingredients

92 043 J.K. LALLA*, P.D. HAMRAPURKAR, P.S. PATIL, (*Dept. of Pharm. Anal., Principal K. M. Kundnani Coll. of Pharm., Plot Nr. 47, Dr. R. G. Thadani Marg, Worli, Mumbai 400 018, India): Azadirachtin as a biomarker compound in HPTLC assay of seed and seed oil of *Azadirachta indica* A. Juss. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 311-314 (2003). HPTLC of azadirachtin on silica gel with toluene - ethyl acetate - formic acid 10:8:1 with chamber saturation for 20 min. at 25°C. After drying of the plate visualization by spraying with vanillin-sulfuric acid reagent (3% vanillin in 1% ethanolic sulfuric acid) and heating at 100°C for 2 min. Quantitation by densitometry at 677 nm. Development of a simple, precise, and specific method.

Quality control, quantitative analysis, densitometry, azadirachtin 15

17. Amines, Amides and Related Compounds

92 002 M. JANICKA et al., see section 2

92 044 L. SIMON-SARKADI*, G. KOCSY, K. LESKO, A. VARHEGYI, Z. VEGH, (*Budapest Univ. of Techn. and Economics, Dept. of Biochem. and Food Techn., P.O. Box 91, 1521 Budapest, Hungary): Investigation of the effect of drought stress on polyamine accumulation in soybean by OPLC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 415-421 (2003). OPLC of polyamines (spermine, spermidine, putrescine, tyramine) after pre-chromatographic derivatization with dansyl chloride by stepwise gradient elution on HPTLC silica gel with mobile phase A (first step), hexane - butanol - triethylamine 900:100:91, eluent B (second step), hexane - butanol 4 1. Densitometry at 313/400 nm in fluorescent mode. Variation of detection procedure.

Food analysis, qualitative identification, biochemistry, polyamines 17

18. Amino Acids and Peptides, Chemical Structure of Proteins

92 045 E.L. PONDER, B. FRIED*, J. SHERMA, (*Dept. of Biol., Lafayette Coll., Easton, PA 18042, USA): Thin layer chromatographic analysis of free pool amino acids in cercariae, rediae, encysted metacercariae, and excysted metacercariae of *Echinostoma caproni*. J. Liq. Chrom. & Rel. Technol. **26**, 2697-2702 (2003). HPTLC of 19 amino acids (alanine, arginine, asparagine, aspartic acid, glycine, glutamic acid, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, ornithine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine) on silica gel, cellulose, strong acid cation-exchange sheets, and on RP-18, pre-cleaned by development with dichloromethane - methanol 1:1. Propanol - 0.5 M NaCl 2:3 was used as eluent for the RP phase, pH 3.3 citrate buffer for the ion exchange layer, and n-butanol - acetic acid - water 3:1:1 for the other two layers. Detection by spraying heavily with ninhydrin reagent (0.3 g ninhydrin and 3 mL acetic acid in 100 mL butanol), air drying for 30 min, and heating for 10 min at 110°C on a plate heater. Quantitation by densitometry at 495 nm for histidine and 610 nm for all other amino acids.

Agricultural, densitometry, qualitative identification, biology 18

19. Proteins

92 046 G. IONITA*, C. POSTOLACHE, C. TILIMPEA, D. DINU, V.E. SAHINI, (*Inst. of Phys. Chem., Univ. of Bucharest, Spl. Independentei 202, Bucharest, 77208, Romania): Planar chromatographic and electrophoretic study of thermally induced conformational modifications of protein structure. J. Planar Chromatogr. **16**, 308-310 (2003). TLC of bovine serum albumin on silica gel impregnated by overnight predevelopment with chloroform - paraffin oil 19:1 with buffer solutions of pH 1, 4, 7, 10, or 12. After drying of the chromatogram visualization by treatment with a 2% solution of ninhydrin in acetone.

Qualitative identification, bovine serum albumin 19

22. Alkaloids

92 047 M. LUCZKIEWICZ*, P. MIGAS, A. KOKOTKIEWICZ, M. WALIJEWSKA, W. CISOWSKI, (*Dept. of Pharmacogn., Med. Univ. of Gdansk, al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdansk, Poland): Two-dimensional TLC with sorbent gradient for the analysis of quinolizidine alkaloids in the herb and in vitro cultures of several *Genista* species. Proc. Intern. Symp. on

Planar Separations Plan. Chrom. 285-289 (2003). One-dimensional TLC of 8 quinolizidine alkaloids (sparteine, α -isosparteine, retamine, hydroxylupanine, cytisine, methylcytisine, sophocarpine, lupanine) on silica gel with hexane - diethyl amine 100:0 to 1:1, on silica gel and DIOL with chloroform - methanol - NH_3 100:0:1, 95:5:1 to 85:15:1, and on DIOL and RP-18 with acetonitrile - water - hydrochloric acid 30:100:5, 30:100:10, 30:100:15 and 30:100:20. 2D-TLC on DIOL with chloroform - methanol - NH_3 85:15:1 (I) in the first direction and after drying at room temperature with acetonitrile - water - hydrochloric acid 30:100:7 (II) in the second direction. In adsorbent TLC - diol plates were used in the first direction with mobile phase I. Then the alkaloids were transferred by a specially designed device on the second RP-18 plate with the mobile phase II. The same phase was then used for the second development in the perpendicular direction. Visualization by spraying with Dragendorff reagent and documentation by photography.

Herbal, qualitative identification, quinolizidine alkaloids, plate transfer 22

92 048 A. PETRUCZYNIK, M. GADZIKOWSKA, M. WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. HAWRYL, (Dept. of Inorg. and Anal. Chem., Med. Univ., Staszica 6, 20-081 Lublin, Poland): Quantitative and qualitative analysis of the tropane alkaloids from *Datura innoxia* by TLC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 377-383 (2003). TLC of tropane alkaloids (i.e. atropine, homatropine, L-hyoscamine, scopolamine, scopolamine N-oxide, tropine, tropic acid) on silica gel with methanol - acetone - NH_3 10:8:1 (I) and methanol - acetone - diethylamine 25:24:1 (II). Also TLC on RP-18 with 25% methanol - water (buffered to pH 3.4) containing 0.01 mL HDEHP (III). 2D-TLC on silica gel with mobile phase II in the first direction and on RP-18 with mobile phase III in the second direction. Development in horizontal chambers after preconditioning. Quantitation by densitometry after spraying with Dragendorff reagent at 520 nm.

Herbal, quantitative analysis, densitometry, tropane alkaloids 22

92 049 A. PETRUCZYNIK, M. WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.L. HAJNOS, L. LOSZAJ, (Dept. of Inorg. and Anal. Chem., Med. Univ., Staszica 6, 20-081 Lublin, Poland): Effect of chromatographic conditions on the separation of some alkaloids in RP-HPTLC. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 385-392 (2003). HPTLC of alkaloids (yohimbine, boldine, novocain, quinine, colchicin, brucine, strychnine, theobromine, narcotine, glaucine, caffeine, protopine) on RP-18 in horizontal chambers after pre-conditioning for 20 min with e.g. binary mixtures of organic modifier, methanol, acetonitrile, or tetrahydrofuran, isopropanol, dioxane with buffered water. Visualization under UV 254 nm. Densitometry at 254 nm. The incorporation of amine to the aqueous mobile phase gives the best results for the separation of alkaloids investigated; the peaks are narrow, in most cases symmetric, and the selectivity of separation is improved.

Quantitative analysis, densitometry, alkaloids 22

92 050 B. SZABO*, A. LAKATOS, T. KÖSZEGI, L. BOTZ, (*Dept. of Botany, Fac. of Sci., Pécs Univ., Ifjúság u. 6, H-7624 Pécs, Hungary): HPTLC and HPLC determination of alkaloids in poppies subjected to stress. J. Planar Chromatogr. **16**, 293-297 (2003). TLC and HPTLC of narceine, morphine, codeine, thebaine, papaverine and narcotine on silica gel with concentration zone with toluene - acetone - ethyl acetate - NH_3 (25%) 20:20:3:1 and toluene - acetone - ethanol - NH_3 20:20:3:1, respectively. Detection by spraying with Dragendorff's reagent with sodium nitrite or by treatment with formaldehyde-sulfuric acid reagent (Marquis's reagent) and densitometry at 600 nm. Evaluation by densitometry at 520 nm. Simple and quick procedure.

Toxicology, quantitative analysis, densitometry, biology, alkaloids 22

23. Other Substances Containing Heterocyclic Nitrogen

- 92 051 J. HABDAS, G. MATYSIK*, (*Dept. of Inorg. and Anal. Chem., Med. Acad., Lublin, Poland): Determination of the yields of meso-tetraphenylporphyrins by densitometry. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 289-292 (2003). HPTLC of 6 porphyrins (5,10,15,20-tetratolylporphyrin, 5-(4-methoxyphenyl)-10,15,20-tritolylporphyrin, 5,10-di(4-methoxyphenyl)-15,20-ditolylporphyrin, 5,15-di(4-methoxyphenyl)-10,20-ditolylporphyrin, 5,10,15-tri(4-methoxyphenyl)-20-tritolylporphyrin, 5,10,15,20-tetra(4-methoxyphenyl)-porphyrin) on diol modified silica gel with dichloromethane- ethyl acetate 97:3. Quantitation by densitometry at 420 nm. Convenient and accurate procedure.
Qualitative identification, biomedical, porphyrins 23

24. Organic Sulfur Compounds

- 92 052 G. GRYGIERCZYK, J. WASILEWSKI, D. LOMANKIEWICZ, W. KLIMCZOK, T. KOWALSKA*, (*Inst. of Chem., Silesian Univ., 9 Szkolna Str., 40-006 Katowice, Poland): Use of complexation TLC to investigate monosulfides. II. Silica impregnated with the Cd(II), Sr(II), Eu(III), and V(IV) cations as stationary phase. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2651-2661 (2003). TLC of 10 monosulfides (1-(methylthio)octadecane, didecylsulfide, dioctadecylsulfide, octadecylthiobenzene, 2-(methylthio)naphthalene, 2-(octadecylthio)naphthalene, 2-(benzylthio)naphthalene, 2-(dodecylthiomethyl)naphthalene, 9-(dodecylthiomethyl)anthracene, 1-(triphenylmethylthio)dodecane) on silica gel and on silica gel impregnated with 5% aqueous solutions of salts of Cd(II), Sr(II), or V(IV), or with a 1% aqueous solution of europium oxide containing the Eu(III) cation. Carbon tetrachloride, hexane - chloroform 9:1, hexane - carbon tetrachloride 9:1, hexane - toluene 19:1, and carbon tetrachloride - hexane - chloroform 7:2:1 were used as mobile phases. After development and drying, visualization under UV 254 nm.
Complexation TLC 24

- 92 053 N.U. PERISIC-JANJIC*, T.L. DJAKOVIC-SEKULIC, K. POPOV-PERGAL, (*Inst. of Chem., Fac. of Sci., Trg D. Obradovica 3, 21 000, 21 000 Novi Sad, Serbia and Montenegro): Correlation between reversed-phase chromatographic retention data and structure of several thiazole derivatives. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 357-362 (2003). Investigation of the retention behavior of thiazoles as function of organic modifier content of the eluents using two types of stationary phases. TLC of 12 3-benzyloxycarbonyl-5-substituted 2,4-dioxotetrahydro-1,3-thiazoles on silica gel, impregnated with paraffin oil, and rice starch with NH₃ conc. - methanol, conc. NH₃ conc. - dioxane, and NH₃ conc. - acetone with different modifier content (from 0.01 to 0.34) for methanol, dioxane, and acetone. Visualization under UV 254 nm.
Influence of organic modifier content 24

27. Vitamins and Various Growth Regulators

- 92 054 S. TAKENAKA, T. ENOMOTO, S. TSUYAMA, F. WATANABE*, (*Dept. of Health Sci., Kochi Women's Univ., Kochi 780-8515, Japan): TLC analysis of corrinoid compounds in fish sauce. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2703-2707 (2003). TLC of vitamin B12 and corrinoid compounds (5-hydroxybenzimidazolyl cyanocobamide, benzimidazolyl cyanocobamide, 7-adenylcyanocobamide) on silica gel with 1-butanol - 2-propanol - water 10:7:10 in the dark at 24°C. The TLC sheet was dried and cut into small pieces; B12 was extracted from the pieces in 80% methanol containing 20 mg/L KCN several times, evaporated to dryness

Parameter der Planar-Chromatographie

Die Beiträge dieser Reihe widmen sich in zwangloser Folge den wesentlichen Arbeitsschritten der Planar-Chromatographie und ihren Parametern, die Einfluss auf das chromatographische Ergebnis haben. Es werden Hinweise zur Optimierung gegeben, um einen effizienten Einsatz der Methode zu gewährleisten.

Das Sammeln dieser Blätter wird empfohlen.

Dokumentation von DC/HPTLC-Platten

Es ist ein inhärenter Vorteil der Planar-Chromatographie, dass das chromatographische Ergebnis als Bild ausgewertet und dokumentiert werden kann. Dies erlaubt eine komfortable qualitative Auswertung von mehreren Proben auf der gleichen Platte. Abbildung 1 zeigt als Beispiel Fingerprints von mehreren Ginseng-Arten (rechts) im Vergleich zu den Referenzsubstanzen (links).

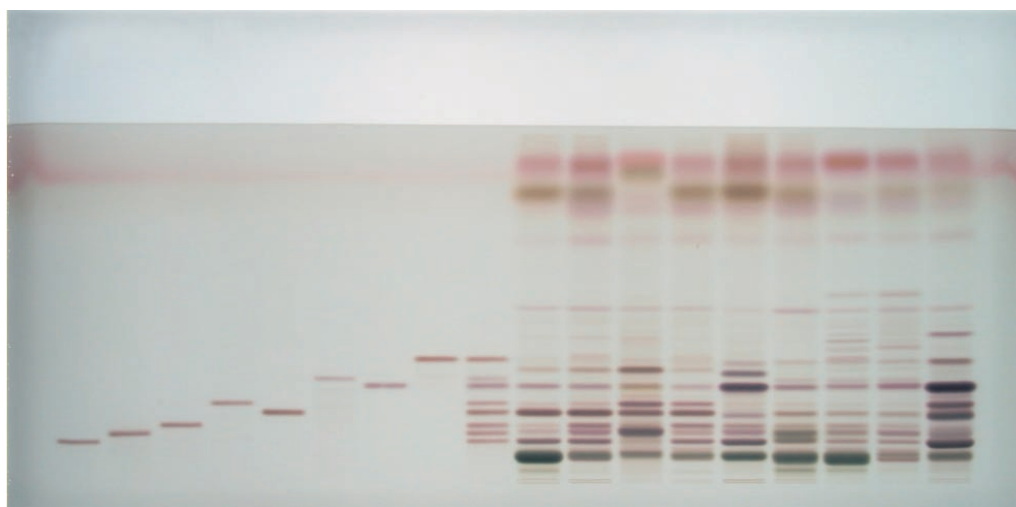


Abbildung 1: HPTLC von Ginseng-Proben

Bahn 1 Ginsenosid Rb1

Bahn 3 Ginsenosid Rc

Bahn 5 Ginsenosid Re

Bahn 7 Ginsenosid Rg1

Bahn 9 Standardmischung

Bahn 11 *P. quinquefolius*-Wurzel, 2 Jahre alt

Bahn 13 *P. quinquefolius*-Wurzelenden

Bahn 15 *P. Ginseng*-Wurzel aus dem Wald

Bahn 17 *P. weiße Ginseng*-Wurzel, 6 Jahre alt

Bahn 2 Ginsenosid Rb2

Bahn 4 Ginsenosid Rd

Bahn 6 Ginsenosid Rf

Bahn 8 Ginsenosid Rg2

Bahn 10 *Panax quinquefolius*-Wurzel, 3 Jahre alt

Bahn 12 *P. quinquefolius*-Blatt von vierjähr. Wurzel

Bahn 14 *P. quinquefolius*-Wurzelstamm, 26 Jahre alt, Wildwuchs

Bahn 16 *P. ginseng* Kirin, rot

Bahn 18 *P. pseudoginseng*, schwarz (Notoginseng)

Für die richtige Identifizierung muss jede Probe mit einer Spezifikation hinsichtlich Anzahl, Farbe, Intensität, Position und Elutionsfolge der Zonen übereinstimmen. Ähnlichkeiten und Unterschiede verschiedener Proben werden schnell erkannt. Proben von unterschiedlichen Arten, Pflanzenteilen oder Behandlungsarten sind eindeutig unterscheidbar. Während die klassische Densitometrie ihre Stärken in der spektralen Selektivität hat und zum Beispiel die Möglichkeit bietet, alle Proben auf einer Platte bei einer Wellenlänge oder eine Probe bei mehreren Wellenlängen (MWL-Scan) zu vergleichen, ermöglicht die visuelle Bildauswertung den Vergleich mehrerer

Proben nebeneinander bei allen Wellenlängen im sichtbaren Bereich (Farben). In den Anfängen der DC musste der visuelle Eindruck von der Platte auch verbal beschrieben werden. Oft wurde ein schematisches Bild dazu gezeichnet. Später wurden die Platten fotografiert und somit haltbare Aufnahmen der Ergebnisse erzeugt. Heutzutage ist die Aufnahme elektronischer Bilder mit Video- oder Digitalkameras die effektivste Art DC/HPTLC-Platten reproduzierbar zu dokumentieren. Auch Flachbett-Scanner können zur Dokumentation von farbigen Substanzzonen unter Weisslicht verwendet werden. Elektronische Bilder können mit Anmerkungen versehen, ausgeschnitten, gespeichert, verschickt und gedruckt werden – bei entsprechender Software alles GxP-konform.

Anforderungen an eine gute Dokumentation

1. Die grundlegende Anforderung an die Dokumentation ist die »Sichtbarkeit« des Chromatogramms mit oder ohne Derivatisierung. In modernen Dokumentationssystemen kann eine von insgesamt drei Lichtquellen gewählt werden. Substanzen, die UV-Licht um 254 nm absorbieren sind als dunkle Zonen auf einem fluoreszierenden Plattenhintergrund sichtbar, wenn die Platte einen Fluoreszenzindikator enthält, der mittels UV-Licht im kurzwelligen Bereich bei 254 nm angeregt wird, grünes oder blaues Licht zu emittieren (siehe Abb. 2a). Fluoreszierende Substanzen werden mit UV-Licht im langwelligen Bereich bei 366 nm angeregt (siehe Abb. 2b). Ein Kantenfilter muss hierbei verwendet werden, der das anregende UV-Licht ausblendet und nur das emittierte, sichtbare Fluoreszenzlicht von unterschiedlichen Wellenlängen durchlässt. Weisslicht wird zur Visualisierung farbiger Substanzen benutzt. Drei Beleuchtungsarten können gewählt werden (Abb. 2c): Reflektion oder Transmission oder beides zusammen. Während bei Weisslicht-Beleuchtung das Auflicht nur ein Bild wiedergibt, das ähnlich dem ist, wie es das blosse Auge sieht, kann zusätzliches Durchlicht für schwach-sichtbare Zonen von Vorteil sein, da auch Substanzmoleküle in tieferen Sorbenschichten zum sichtbaren Bild beitragen.

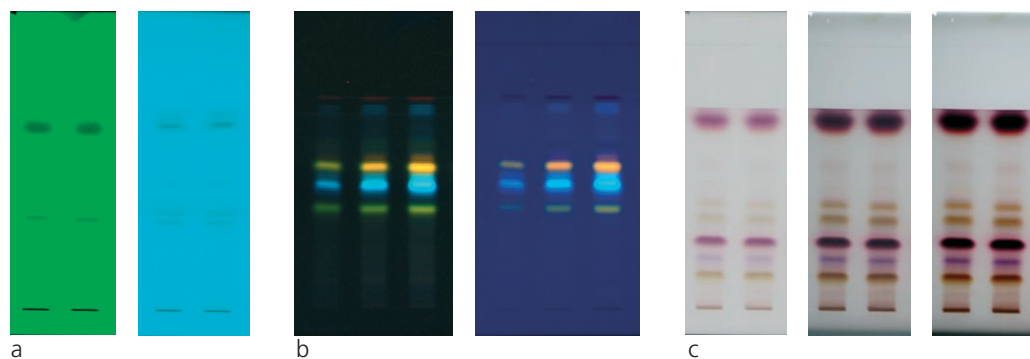


Abbildung 2: Dokumentation bei unterschiedlichen Beleuchtungsarten

a) HPTLC Fingerprint von Kamillenöl bei UV 254 nm (F_{254} links, F_{254s} rechts), b) HPTLC Fingerprint von *Crataegus* spp. nach Derivatisierung mit NP-Reagenz bei UV 366 nm (mit Kantenfilter links, ohne Kantenfilter rechts) c) Kamillenöl derivatisiert mit Anisaldehyd-Reagenz bei Weisslicht (Auflicht links, Auflicht und Durchlicht Mitte, Durchlicht rechts).

- Zur Dokumentation einer Serie von ähnlichen Platten als Bilder gleicher Grösse ist es wichtig, die Platte korrekt zu positionieren und Zoom und Fokus der Kamera zu fixieren. Bilder, die miteinander verglichen werden sollen, müssen die gleiche Auflösung haben. 640 × 480 Pixels sind völlig ausreichend, um Bilder auf dem Bildschirm anzusehen. Bessere Auflösungen, wie 1024 × 768 oder höher, eignen sich besser zum Ausdrucken mit einem Fotodrucker. Jedoch werden die Bild-Dateien zunehmend grösser (> 1–2 MB) und sind damit schlechter zu handhaben. Wenn hoch-aufgelöste Bilder am Bildschirm dargestellt werden, muss man gewöhnlich die Ansicht verkleinern, um das gesamte Bild im aktuellen Fenster sehen zu können. Das führt oft zur Bildkompression und zum Verlust von kleinen Details.
- Im elektronischen Bildformat muss für den sachgemässen Vergleich mehrerer Platten miteinander sichergestellt werden, dass alle Kamera-parameter konstant gehalten werden, einschliesslich Weissabgleich, Blendenöffnung, Belichtungszeit, Fokus und Zoom. Diese Anforderung kann gut erfüllt werden, wenn so genannte Konfigurationen benutzt werden, die alle Funktionen der Digitalkamera steuern. Zur GxP-konformen Dokumentation müssen alle Parameter rückverfolgbar sein und mit dem Bild gespeichert werden.
- Obwohl es sehr bequem ist, wird es nicht empfohlen, die Digitalkamera im Automatik-Modus zu betreiben, wenn Bilder mehrerer Platten miteinander verglichen werden sollen. Um mögliche Unterschiede zwischen den Platten sehen zu können, müssen die Kameraparameter bekannt und fixiert sein.

Mehrfach-Detektion

Um die maximale Information aus einem gegebenen Chromatogramm zu ziehen, ist es oft hilfreich, die Platte mehrfach zu detektieren (Abb. 3) ohne die Chromatographie wiederholen zu müssen. Neben den unterschiedlichen Beleuchtungsarten können auch chemische Derivatisierungen eingesetzt werden, um bestimmte Details der Probe hervorzuheben.

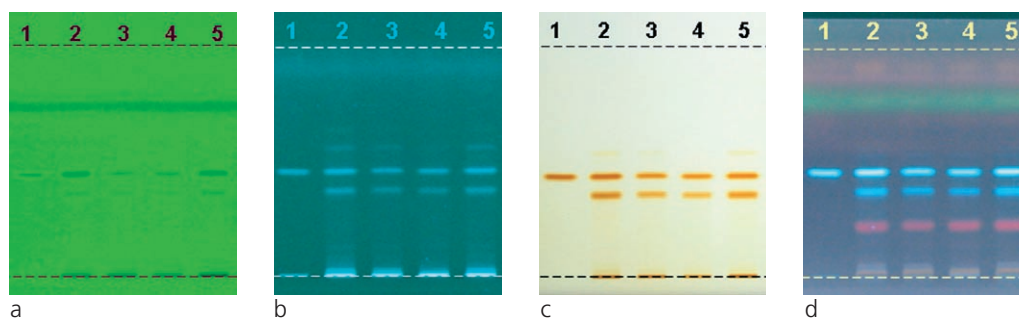


Abbildung 3: Mehrfach-Detektion von *Stephania* getrennt auf HPTLC-Kieselgel vor der Derivatisierung unter a) UV 254 nm, b) UV 366 nm, sowie nach der Derivatisierung c) mit Jod im Weisslicht-Auflicht und d) mit Anisaldehyd-Reagenz unter UV 366 nm.

Software

winCATS – Planar Chromatography Manager (Abb. 4) enthält komfortable Hilfsmittel zur Dokumentation von DC/HPTLC-Platten. Sowohl eine Digital- als auch eine Videokamera kann mit dem Programm kontrolliert werden (Abb. 5). Alle Parameter, die zu einer reproduzierbaren Bildaufnahme nötig sind, sind Bestandteil der Methodendatei. Für jede Platte können mehrere Bilder mit unterschiedlichen Bedingungen aufgenommen werden und in die Analysendatei integriert werden. Eine große Auswahl an Beschriftungshilfsmitteln samt der Anzeige des R_F -Wertes machen das Bearbeiten von Bildern leicht. Mit der integrierten Exportfunktion können Bilder in andere Anwendungen, wie Word-Dokumente oder Powerpoint-Präsentationen, übertragen werden. Die Dokumentation mit winCATS ist GxP-konform.

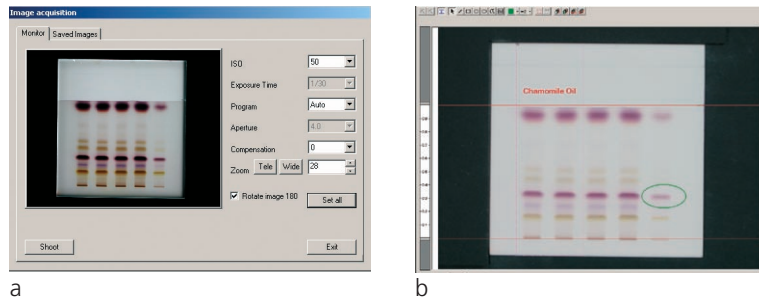


Abbildung 4: winCATS Planar Chromatography Manager a) Twain-Interface zur Kamerakontrolle, b) Beschriftung des aufgenommenen Bildes



Abbildung 5: CAMAG DigiStore Dokumentationsystem mit Digitalkamera



CAMAG · Sonnenmattstrasse 11 · CH-4132 Muttenz 1 (Schweiz)
Tel. +41-61 467 34 34 · Fax +41-61 461 07 02 · info@camag.com

CAMAG · Bismarckstrasse 27–29 · DE-12169 Berlin (Deutschland)
Tel. +49-30 516 55 50 · Fax +49 -30 795 70 73 · info@camag-berlin.de

CAMAG Scientific Inc. · 515 Cornelius Harnett Drive · Wilmington, NC 28401 (USA)
Tel. +1-910 343 1830 · Fax +1-910 343 1834 · tlc@camagusa.com

www.camag.com

and used as samples for the B12 microbiological assay.

Food analysis, qualitative identification, vitamin B12 27

92 022 K. TYRPIEN et al., see section 3

28. Antibiotics, Mycotoxins

92 055 A. MORICZ, P. OTT, K.H. OTTA, E. TYIHAK, (Dept. of Chem. Techn. and Env. Chem., L. Eötvös Univ., P.O. Box 32, 1518 Budapest 112, Hungary): Separation and detection of some aflatoxins using overpressured layer chromatography and bioautography. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 319-327 (2003). OPLC of aflatoxins B1, B2, G1, G2 on silica gel, prewashed with methanol - acetone 1:9, with chloroform - acetone 22:3. Bioautography after drying by dipping in culture media containing *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* bacteria cells and incubation for 18 h at 100% rel. humidity at 28°C. For visualization bioautograms were stained with an aqueous solution of MTT (in 100 mL water 80 mg MTT and 100 mg Triton X-100 solution).

Qualitative identification, aflatoxins 28

92 056 A. MORICZ*, K.H. OTTA, E. TYIHAK, (*Dept. of Chem. Techn. and Env. Chem., L. Eötvös Univ., P.O. Box 32, H-1518 Budapest 112, Hungary): Separation and detection of aflatoxins using overpressured-layer chromatography and bioautography. J. Planar Chromatogr. **16**, 417-420 (2003). OPLC of aflatoxins B1, B2, G1, and G2 on silica gel, predeveloped with methanol - acetone 1:1, with chloroform - acetone 22:3. After drying bioautography of aflatoxins after drying by dipping into *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* cell suspensions and incubation for 18 h in a chamber at 100% relative humidity at 28°C. Visualization by staining with an aqueous solution of MTT, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (80 mg MTT and 100 mg Triton X-100 in 100 mL water). Bioautography as a suitable detection procedure for aflatoxins separated by planar chromatography.

Toxicology, qualitative identification, OPLC, aflatoxins 28

92 057 E. TYIHAK*, P. OTT, A. MORICZ, G. KATAY, ZS. KIRALY-VEGHELY, (*Plant Prot. Inst., Hungarian Acad. of Sci., P.O. Box 102, 1525 Budapest, Hungary): Antibiosis, antibiotics, and formaldehyde cycle: Unique importance of planar chromatographic techniques in this progress direction. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 61-70 (2003). OPLC of trans-resveratrol on silica gel with chloroform - methanol 10:1. Detection by bioautography - dried plates were immersed for 20 s into a suspension of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolocola* and visualized by staining with MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide).

Biochemistry, OPLC, trans-resveratrol 28

29. Insecticides, Pesticides and other Agrochemicals

92 002 M. JANICKA et al., see section 2

92 058 M. SOBER*, M. LEKIC, F. KORAC, B. IMAMOVIC, A. MARJANOVIC, (*Fac. of Pharm., Univ. of Sarajevo, Cekalusa 90, 71 000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina): Identification of chlorophenoxy herbicides by TLC in clinical toxicology. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 423-432 (2003). TLC of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2-methyl-4-chloro-phenoxypropionic acid, 2,4-dichloropropionic acid, and 2,4-dichlorobutyric acid on precoated silica gel plates and silica gel, prewashed, and impregnated with Cu(II),

Co(II) and Fe(III) salts with heptane - dioxane - acetic acid 60:40:1. Visualization of spots on precoated plates under UV 254 nm. The best results have been achieved with silica gel impregnated with 0.2 % CuSO₄. In addition to efficient separation, such impregnation makes possible visualization without further use of reagents or UV lamps. New method for separation and identification.

Toxicology, qualitative identification, chlorophenoxy herbicides 29

92 059 T. TUZIMSKI*, E. SOCZEWINSKI, (*Dept. of Inorg. and Anal. Chem., Med. Univ., Staszica 6, 20-081 Lublin, Poland): Correlation of retention data of pesticides in normal- and reversed-phase systems and utilization of the data for separation of a mixture of ten urea herbicides by two-dimensional thin-layer chromatography on cyanopropyl-bonded polar stationary phase and on a two-adsorbent-layer Multi-K SC5 plate. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 263-267 (2003). Comparison of selectivities of TLC systems by use of correlations between RF(II) and RF(I) values (by analogy with two-dimensional TLC). 2D-TLC of 10 urea herbicides (monolinuron, linuron, metobromuron, chlorbromuron, chlorotoluron, diuron, metoxuron, isoproturon, chloroxuron, methabenzthiazuron) on cyanopropyl-modified silica gel, normal-phase with ethyl acetate - heptane 1:4 (step A) and reversed-phase with dioxane - water 2:3 (step B). Also separation by the 2D-TLC system comprising normal-phase chromatography on silica gel with tetrahydrofuran - heptane 2:3 and reversed-phase on RP-18 silica with methanol - water 3:2. Detection under UV 254 nm. One-dimensional HPTLC on RP-18 and cyanopropyl-modified silica gel.

Two-dimensional TLC, two-adsorbent layer Multi-K SC5 plate 29

30. Synthetic and Natural Dyes

92 060 D. MILOJKOVIC-OPSENICA*, K. LAZAREVIC, V. IVACKOVIC, Z.L. TESIC, (*Fac. of Chem., Univ. of Belgrade, P.O. Box 158, YU-11001 Belgrade, Yugoslavia): Reversed-phase thin-layer chromatography of some foodstuff dyes. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 276-279 (2003). Study of the effects of eluent modifications TLC of 9 frequently used water-soluble food dyes (tartrazine, sunset yellow FCF, quinoline yellow FCF, amaranth, ponceau 6R, erythrosine, indigo carmine, brilliant blue FCF, brilliant black BN) on RP-18 with ammonium sulfate solutions (0.1, 0.5, and 1.0 mol/l) in water - organic modifier (ethanol or acetone) of widely variable composition.

Food analysis, qualitative identification, water-soluble food dyes 30

32. Pharmaceutical and Biomedical Applications

92 061 M. ALEKSIC*, J. ODOVIC, D. MILOJKOVIC-OPSENICA, Z. TESIK, N. PERISIK-JANJIC, (*Fac. of Pharm., Univ. of Belgrade, P.O. Box 146, 11000 Belgrade, Serbia and Montenegro): Reversed-phase thin-layer chromatography of several myorelaxants. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 181-184 (2003). TLC of myorelaxants (atracurium besylate, pancuronium bromide, rocuronium chloride, suxamethonium chloride, vecuronium bromide) on cellulose with water - ethanol and water - propanol, varying the concentration of the organic modifier from 30 to 70 vol % of ethanol, as well as from 10 to 90 vol % of propanol. Detection by exposure to iodine vapor.

Pharmaceutical research, qualitative identification, myorelaxants 32

92 062 B. BAGOCSI, A. LAUKO, S. MAHO, Z. VEGH, K. FERENCZI-FODOR, (Gedeon Richter Ltd., P.O. Box 27, H-1475 Budapest, Hungary): The role of OPLC as an in-process test in

total-synthesis of norsteroids. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 185-189 (2003). OPLC of norsteroids (e.g. 19-nortestosterone, estradiol-methylether-acetate) on silica gel with different mixtures of toluene, chloroform, butyl acetate, and hexane, i.e. toluene - chloroform - cyclohexane - butyl acetate 55:3:40:2. Visualization by spraying with 10% sulfuric acid in ethanol and heating at 120°C for 2 min. Also visual evaluation under UV 254 and 366 nm before and after spraying. Use of a video documentation system.

OPLC, norsteroids

32

- 92 063 B. BAGOCSI, G. RIPPEL, M. MEZEI, Z. VEGH, K. FERENCZI-FODOR*, (*Gedeon Richter Ltd.; Central Anal. Lab., H-1475 Budapest 10, P.O. Box 27, Hungary): OPLC, a method between TLC and HPLC, for purity testing of norethisterone bulk drug substance and tablet. J. Planar Chromatogr. **16**, 359-362 (2003). TLC of norethisterone and impurities (e.g. 17-epi-norethisterone, Δ^4 -nordione, 6-ketonor-ethisterone) on silica gel with chloroform - acetone 9:1 and chloroform -methanol 19:1. Visualization by derivatization with 10% ethanolic sulfuric acid and heating at 120°C for 2 min. Visualization under UV 366 nm. OPLC on silica gel with hexane and butyl acetate - chloroform 17:3. Evaluation by videodensitometry. Comparison of selectivity and efficiency of TLC, OPLC, and HPLC.

Pharmaceutical research, quality control, qualitative identification, comparison of methods

32

- 92 064 B. BAGOCSI, G. RIPPEL, M. MEZEI, K. FERENCZI-FODOR, (Gedeon Richter Ltd., P.O. Box 27, H-1475 Budapest 10, Hungary): OPLC, a method between TLC and HPLC, in purity testing of norethisterone drug substance and tablet. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 191-196 (2003). OPLC and TLC of norethisterone and degradation products (6 α -hydroxy-, 6 β -hydroxy-, 10-hydroxy-, 17-epi-, 6-ketonorethisterone, and Δ^4 -nordione) on silica gel with chloroform -acetone 9:1 for TLC and n-hexane and butyl acetate - chloroform 17:3 for OPLC. Visualization by spraying with 10% ethanolic sulfuric acid solution and heating for 1 min at 120°C. Evaluation of the chromatograms under UV 366 nm. Quantitation by videodensitometry.

OPLC, norethisterone

32

- 92 065 V. BODIS, SZ. NYIREDY*, (*Res. Inst. for Med. Plants, Lupaszigeti út 4, 2011 Budakalász, Hungary): On-plate solid-liquid continuous extraction, a novel exhaustive technique. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 203-208 (2003). Description of the novel on-plate solid-liquid continuous extraction (SLCE) with preparative layers. The fine powdered sample to be extracted has to be introduced into a preparative layer on a 200 mm x 30 mm plate which is placed into a special device. The prepared preparative plate is covered with a glass plate, and with the help of a thick filter paper the extraction can be started with the appropriate extraction solvent. HPTLC of furocoumarins on silica gel under unsaturated conditions with ether - dichloromethane - tetrahydrofuran - hexane 10.71:9.68:7.5:72.11. Quantitation by densitometry at 313 nm.

Herbal, quantitative analysis, densitometry, furocoumarins

32

- 92 066 E. BRZEZINSKA*, G. KOSKA, (*Dept. of Anal. Chem., Med. Univ. of Lodz, Muszynskiego 1, 90-151 Lodz, Poland): TLC data in QSAR assay of thiazole and benzothiazole derivatives with H₁-antihistamine activity. Part 1. J. Planar Chromatogr. **16**, 451-457 (2003). TLC of derivatives of 2-[2-(phenylamino)thiazol-4-yl]ethanamine, 2-(2-benzyl-4-thiazolyl)ethanamine, 2-(benzhydrylthiazol-4-yl)ethanamine, 2-(1-piperazinyl)benzothiazole, and 2-(hexahydro-1H-1,4-diazepin-1-yl)benzothiazole on RP-2 impregnated with solutions of propionic acid, propionamide, and n-amylamine and their mixtures, with mobile phases comprising 4:1 mixtures of acetonitrile, methanol, or dichloromethane with 0.02 mol/l ammonium acetate buffer pH 7.4. Chromatographic data reported here were obtained by use of two mobile

phases: acetonitrile - methanol - buffer 2:2:1, and acetonitrile - methanol - dichloromethane - buffer 6:1:1:2. Detection under UV 254 nm. Investigation of quantitative structure-activity relationships (QSAR).

Pharmaceutical research, qualitative identification, thiazole and benzothiazole derivatives

32

92 067 A.N. CAMPBELL, J. SHERMA*, (*Dept. of Chem., Lafayette Coll., Easton, PA 18042, USA): Determination of famotidine in acid reduction tablets by HPTLC and videodensitometry of fluorescence quenched zones. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2719-2727 (2003). HPTLC of famotidine on silica gel (with concentrating zone) with ethyl acetate - methanol - toluene - NH₃ conc. 40:25:20:2 with 15 min chamber saturation. Quantitation by densitometry at 254 nm. Evaluation of precision (1.25 - 2.55% RSD) and accuracy.

Quality control, quantitative analysis, densitometry, famotidine

32

92 068 M. CAO (Cao Meifang)*, SH. LI (Li Shifang), (*Affil. Shuguang Hosp., Shanghai Univ. TCM, Shanghai 200021, China): (The quality standard for compound Bushen granules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao)* **25**(3), 193-196 (2003) TLC on silica gel with 1) toluene - chloroform - acetone - formic acid 40:25:35:3, 2) ethyl acetate - chloroform 4:1, 3) chloroform - methanol - water 13:7:2. Detection 1) by spraying with 5% AlCl₃ in ethanol and heating, 2) under UV, 3) by spraying with 5% sulfuric acid in ethanol and heating. Identification by finger-print technique.

Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, psoralen, isopsoralen

32

92 069 Y. CHEN (Chen Yunfeng), (Luoyang Municip. Inst. Drug Cont., Luoyang, Henan 471003, China): (An improved procedure for the identification of Shouwu pills by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao)* **25**(4), 346-347 (2003). Improvement of a TLC procedure based on that in China Pharmacopoeia. TLC on silica gel by twice developing with benzene - ethanol 2:1 for the first and benzene - ethanol 4:1 for the second. Detection by 1) by spraying with 3% phosphomolybdic acid - H₂SO₄ solution and heating at 105°C. Identification by finger print technique. Discussion of the advantages of the improved procedure in the quality control of the medicine.

Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification,

32

92 070 I.M. CHOMA, (Dept. of Chem. Phys., Univ. of M. Curie-Sklodowska, M. Sklodowska Sq. 3, 20-031 Lublin, Poland): TLC separation of fluoroquinolones: Searching for better selectivity. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2673-2685 (2003). TLC of 6 veterinary fluoroquinolones (difloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, sarafloxacin, enrofloxacin, and flumequine) by 1- and 2-dimensional development on silica gel and on diol-, amino-, and cyanopropyl-modified silica gel with six different mobile phases like e.g. dichloromethane - methanol - 2-propanol - 25% NH₃ 3:3:5:2 and 4:4:5:2. Detection under UV 254 or 366 nm. Optimization procedure.

Pharmaceutical research, qualitative identification, fluoroquinolones

32

92 071 C. CIMPOIU*, V. MICLAUS, G. DAMIAN, M. PUIA, D. CASONI, C. BELE, T. HODISAN, (*Fac. of Chem. and Chem. Eng., "Babes-Bolyai" Univ., 11 Arany Janos, 3400 Cluj-Napoca, Romania): Identification of new phthalazine derivatives by HPTLC-FTIR and characterization of their separation using some molecular properties. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2687-2696 (2003). Systematic investigation TLC of 9 phthalazines (e.g. 1-o-bromophenoxy-4-phenyl-phthalazine, 1-p-nitrophenoxy-4-phenyl-phthalazine, and 1-[3-(β-diethylaminoethyl)-4-methyl-7-coumarinyloxy]-4-phenyl-phthalazine and their corresponding 4-tolyl- and -4-benzyl-compounds) on silica gel with toluene - chloroform- methanol 70:

20:1. The plates were developed twice with the same mobile phase at room temperature in a saturated N-chamber. Detection under UV 254 nm. The quality of HPTLC-FTIR spectra is sufficient for the identification of unknown substances.

Pharmaceutical research, qualitative identification, phthalazine derivatives 32

92 072 V.G. DONGRE*, V.W. KAMBIE, (*Dept. of Chem., Dr Babasaheb Ambedkar Marathwada Univ., Aurangabad-431 004, India): HPTLC detection and identification of heroin (diacetylmorphine) in forensic samples. Part III. J. Planar Chromatogr. **16**, 458-460 (2003). HPTLC of heroin, morphine, codeine, thebaine, papaverine, narcotine, paracetamol, benzodiazepines, methaqualone, phenobarbitone, and procaine hydrochloride on silica gel with chloroform - ethanol 9:1 with chamber saturation. Visualization by spraying with freshly prepared 1% aqueous ferric chloride, then with 1% acidified ethanolic 2,2-dipyridyl solution and heating at 100°C for 10 min.

Toxicology, qualitative identification, heroin, , 32

92 073 I. FECKA*, A. KOWALCZYK, W. CISOWSKI, (*Dept. of Pharmacogn., Wroclaw Med. Univ., pl. Nankiera 1, 50-140 Wroclaw, Poland): Optimization of the separation of flavonoid glycosides and rosmarinic acid from *Mentha piperita* on HPTLC plates. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 223-230 (2003). HPTLC of caffeetannins and flavonoid glycosides (eriocitrin, hesperidin, luteolin-7-O-rutinoside, diosmin and rosmarinic acid) on silica gel and chemically modified (amino-, cyano-, and RP-18) silica gel. The mobile phase acetone - acetic acid 17:3 was successful for the aminopropyl phase and water - methanol 3:1 for RP-18. Detection under UV 365 nm before and after spraying with 2% methanolic aluminium chloride solution or in visible light after spraying with bis-diazotized sulphanilamide. Simple and useful procedure.

Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, 32

92 074 H. FUJINO*, I. YAMADA, T. SAITO, S. SHIMADA, J. KOJIMA, (*Tokyo New Drug Res. Lab. I, Kowa Company Ltd. 2-17-43 Noguchicho, Higashimurayama, Tokyo, 189-0022 Japan): Metabolic interaction of several medicines examined using planar chromatogram-radioluminography. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 111-121 (2003). TLC of ¹⁴C-labeled 6 α -hydroxytaxol and 4-hydroxytolbutamide on silica gel with toluene - acetone - formic acid 60:39:1 in a horizontal chamber, separation of 6 β -hydroxytestosterone on silica gel with dichloromethane - acetone 4:1. After drying the plates were placed in contact with a phosphor imaging plate (IP) for 12 h. The amount of unchanged drug and metabolites were determined using a photo Film.

Radioisotope tracer technique 32

92 075 M. GLENSK, B. ZBIKOWSKA, W. CISOWSKI, (Dept. of Pharmacognosy, Univ. of Med., pl. Nankiera 1, 50-140 Wroclaw, Poland): TLC separation of *Uncaria tomentosa* alkaloids on chemically modified stationary phases. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 243-249 (2003). TLC of alkaloids on silica gel and diol-, cyano-, amino-, and RP-18 modified silica gel with ethyl acetate - methanol - water 100:13.5:10 (I), ethyl acetate - methanol - water - acetic acid 100:2.7:5:3 (II), ethyl acetate - methanol - water - formic acid 100:2.7:5:3 (III), and ethyl acetate - iso-propanol - NH₃ 100:2:1 (IV) as mobile phases for silica gel and aqueous mobile phase containing methanol and ammonia for RP-chromatography in a horizontal developing chamber with sandwich configuration. 2-D TLC was performed on silica gel with (II) in the first direction and, after drying, with (III) in the second direction. Detection with Dragendorff or iodine reagent.

Herbal, qualitative identification, alkaloids 32

- 92 076 A. GUMIENICZEK*, A. BERECKA, H. HOPKALA, T. MROCZEK, (*Dept. of Med. Chem., Med. Univ. of Lublin, Chodzki Str. 6, 20-039 Lublin, Poland): Rapid HPTLC determination of rosiglitazone in pharmaceutical formulations. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 3307-3314 (2003). HPTLC of rosiglitazone((+/-)-5-[4-[2-[N-methyl-N-(2-pyridinyl)amino]-ethoxy]benzyl]-2,4-thiazolidinedione maleate) on silica gel with chloroform - ethyl acetate - 25% NH₃ 50:50:1. Detection and quantitation by densitometry in the reflectance/absorbance mode at 240 and 245 nm. Precision expressed as mean RSD was 3.58 and 2.76% for 240 nm, and 8.23 and 6.56% for 254 nm; mean recoveries from the fortified samples ranged from 89.48% to 99.38% for 240 nm, and from 89.05% to 100.89% for 254 nm. The mean recoveries from tablets were 101.95% to 103.2% for assays at 240 and 254 nm, respectively. New, simple, rapid method.
Quality control, quantitative analysis, densitometry, rosiglitazone 32
- 92 077 A. GUMIENICZEK*, H. HOPKALA, A. BERECKA, D. KOWALCZUK, (*Dept. of Med. Chem., Med. Univ. of Lublin, Chodzki Str. 6, 20-093 Lublin, Poland): Normal- and reversed-phase thin-layer chromatography of seven oral antidiabetic agents. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 271-275 (2003). TLC of chlorpropamide, tolbutamide, glibenclamide, metformin, pioglitazone, rosiglitazone, and repaglinide on silica gel and oxide with mixtures of chloroform, ether, and ethyl acetate. For more effective resolution aqueous ammonia or acetic acid was added to the mobile phase. Silica enabled better separation than alumina. Reversed-phase chromatography was performed on RP-18 with mixtures of acetonitrile or 2-propanol with phosphate buffer. For the separation of these drugs RP chromatography was more effective than use of normal-phase mode. Determination under UV 254 nm. Systematic optimization of separation conditions.
Chlorpropamide, tolbutamide, glibenclamide, metformin, pioglitazone, rosiglitazone, and repaglinide biomedical application 32
- 92 078 G. HAN (Han Guiru)*, ZH. Zhao (Zhao Zhijun), R. XU (Xu Renliu), (*Hebei Prov. Inst. Drug Cont., Shijiazhuang, Hebei 050011, China): (Determination of ephedrine hydrochloride in Herba Ephdrae and its preparations by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao)* **25**(3), 203-205 (2003) TLC on silica gel with 1) chloroform - ethyl acetate - methanol - water 13:40:22:10. Detection by spraying with 0.5% ninhydrin in ethanol and heating at 105°C for 10 min. Identification by comparison with the standard. Quantitation by densitometry at 525 nm.
Pharmaceutical research, quantitative analysis, densitometry, ephedrine hydrochloride 32
- 92 079 ZH. HAN (Han Zhangzhou)*, Y. LI (Li Yu), (*Shenzhen Sanjiu Pharm. Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong 518029, China): (Determination of panaxatriol in Cuxuesheng granules by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao)* **25**(6), 459-461 (2003). TLC on silica gel with benzene - ether - ethyl acetate 5:3:3. Detection by spraying with 10% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C. Identification by finger print technique. Quantitation of panaxatriol by densitometry at 530 nm. Discussion of use of the procedure for the quality control of the medicine.
Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis, densitometry, panaxatriol 32
- 92 080 W. HE (He Wei)*, R. RONG (Rong Rong), ZH. XIAO (Xiao Zhenliang), (Coll. TCM, Shandong Univ. TCM, Jinan 250014, China): (Study on the quality for Yishen Jiangya pills.) (Chinese). *J. Chinese Trad. & Herb. Drugs, (Zhongcaoyao)* **34**(4), 326-328 (2003). TLC on silica gel with 1) toluene (water saturated) - ethyl acetate - formic acid 5:4:1, 2) chloroform-acetone - formic acid 8:1:1, 3) chloroform - methanol - water 8:3.5:1. Detection 1) spraying with 5% AlCl₃ in ethanol and under UV365 nm, 2) by spraying with 2% FeCl₃ in ethanol, 3) under UV 365 nm. Identification by finger print technique.

- Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, icariin 32
- 92 081 H. HOPKALA, A. POMYKALSKI*, T. MROZEK, M. OSTEP, (*Dept. of Med. Chem., Fac. of Pharm., Med. Univ. of Lublin, 6 Chodzki Str., 20-093 Lublin, Poland): Densitometric and videodensitometric TLC determination of timolol and betaxolol in ophthalmic solutions. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 280-285 (2003). TLC of timolol (S-1[(1,1-dimethylamino)-3-[[4-(4-morpholinyl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]-2-propanol) and betaxolol (1-[4[2(cyclopropylmethoxy)ethyl]phenoxy-3-[(1-methylethyl)amino]-2-propanol) on silica gel with acetone - methanol 1:1, dichloromethane - methanol 1:1, dichloromethane - methanol - NH₃ (25%) 20:79:1, ethyl acetate - methanol - NH₃ (25%) 20:79:1 and 40:9:1 and on aluminium oxide with chloroform - 0.1 mol/l picric acid 97:3 or ethyl acetate - methanol - acetic acid 75:23:2. Also RP-TLC on RP-8 with tetrahydrofuran - 0.15 mol/l phosphate buffer pH 2.4 3:7. Detection after drying under UV 254 nm or after spraying with a 15% solution of iron(III)chloride in 5% HCl and then with 15% KI solution. Quantitation by densitometry of timolol at 300 nm and of betaxolol at 218 nm. Detection limits obtained for betaxolol and timolol were 0.025 and 0.05 µg, respectively; for UV irradiation at 254 nm were 2 and 0.5 µg for betaxolol and timolol, respectively. 32
- 92 082 Z. JANECKO*, U. HUBICKA, J. KRZEK, I. PODOLAK, (*Dept. of Pharmacogn., Collegium Medicum, Jagiellonian Univ., Medyczna 9, 30-688 Krakow, Poland): Qualitative and quantitative analysis of diosmin in tablets by thin-layer chromatography with densitometric UV detection. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 377-380 (2003). TLC of diosmin on silica gel with chloroform - methanol - water 23:12:2 with chamber saturation with 25% NH₃. Quantitation by densitometry at 344 nm. Repeatable and accurate results were obtained, limit of detection was 20 ng; satisfactory recovery (99.8 to 100.3%); linearity is given from 5 to 50 µg/mL. New and simple procedure. Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis, densitometry, diosmin 32
- 92 083 H. KALASZ*, J. LENGYEL, T. SZARVAS, G. MOROVJAN, I. KLEBOVICH, (*Dept. of Pharmacol. and Pharmacotherapy, Semmelweis Univ., Nagyvárad tér 4, H-1089 Budapest, Hungary): Investigation of metabolism using TLC-DAR and reaction-displacement TLC. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 381-385 (2003). TLC of (-)-deprenyl and metabolites (formaldehyde as dimedone adduct) on silica gel with chloroform - methanol - NH₃ 100:10:1 and chloroform - methanol - water 7:5:1 in the first and second dimension, respectively. Also TLC of dimedone on silica gel with 5% triethanolamine in chloroform. Visualization under UV 254 nm. Detection of radiolabeled compounds by digital autoradiography (DAR) or on X-ray film after contact autoradiography. Two-dimensional separations have improved the evaluation. Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis, densitometry, deprenyl 32
- 92 084 E. KEPZYNSKA, J. BOJARSKI, A. PYKA*, (*Dept. of Anal. Chem., Fac. of Pharm., Silesian Acad. of Med., 4 Jagiellonska Street, 41-200 Sosnowiec, Poland): Lipophilicity of barbiturates determined by TLC. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 3277-3287 (2003). TLC of 13 5,5-disubstituted barbiturates (e.g. barbital, pentobarbital, butobarbital, amobarbital, phenobarbital, aprobarbital, butalbital, talbutal, cyclopal) on RP-18 with methanol - water and methanol - Bates-Bower borate buffer mixtures. The methanol content was varied by 5% volume from 40 to 100%. After drying, visualization under UV 254 nm. Significant correlations were found between e.g. RM, RM0, log kIAM, log P, selected biological activity

- values, and topological indices. TLC results as base for theoretical considerations.
Qualitative identification, 5,5-disubstituted barbiturates 32
- 92 085 Z. KIRALY-VEGHELY, G. KATAY, E. TYIHAK, (Res. Inst. for Viticulture and Enology of Agricultural Ministry, Experimental Wine Cellar, Maláta út 4, 1105 Budapest, Hungary): Separation of some stilbene isomers from red wine by overpressured layer chromatography. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 257-265 (2003). OPLC of cis-resveratrol, trans-resveratrol, cis-piceatannol, trans-piceatannol, cis-piceid, and trans-piceid on RP-18 with diluted acetic acid (pH 2.5) - acetonitrile 19:6. Evaluation by densitometry at 310 nm.
Food analysis, quantitative analysis, resveratrol, piceatannol, piceid 32
- 92 033 M. KOZYRA et al., see section 11
- 92 086 M. KOZYRA*, K. GLOWNIAK, A. ZADUBIEC, (*Dept. of Pharmacogn. with the Med. Plant Garden, Med. Univ., 1 Chodzki St, 20-093 Lublin, Poland): Phenolic acids in *Peucedanum verticillare* L. Koch ex Dc. J. Planar Chromatogr. **16**, 421-424 (2003). TLC and 2-D TLC of phenolic acids (p-coumaric, chlorogenic, hydroxybenzoic, caffeic, rosmarinic, syringic, isovanillic, vanillic, protocatechuic, ferulic, g-resorcylic, β -resorcylic, and gentisic acid) on cellulose with toluene - ethyl formate - formic acid 5:4:1, sodium formate - formic acid - water 10:1:200, and 15% aqueous acetic acid for one-dimensional separation and after preconditioning with benzene - methanol - acetic acid 94:1:5 for 5 min with benzene - methanol - acetic acid - acetonitrile 16:2:1:1 in the first direction and sodium formate - formic acid - water 10:1:200 in the second direction. Detection under UV 254 and 366 nm. Visualization also by 3% methanolic solution of iron(III) chloride and 1:1 diazotized sulfanilic acid in 20% sodium carbonate solution.
Pharmaceutical research, herbal, phenolic acids 32
- 92 087 V.P. KUMAR, M.N. RAVISHANKARA, H. PADH, M. RAJANI*, (*Dept. of Pharmacogn. and Phytochem., B. V. Patel Pharm. Education and Res. Development Centre, Thaltej, Ahmedabad 380 054, India): High-performance thin-layer chromatographic method for estimation of rutin in medicinal plants. J. Planar Chromatogr. **16**, 386-389 (2003). TLC of rutin from medicinal plants (e.g. *Tephrosia purpurea*, *Leptadenia reticulata*, *Ruta graveolens*) on silica gel with ethyl acetate - butanol - formic acid - water 5:3:1:1 with chamber saturation for 15 min (25°C, relative humidity 40%). Quantitation by densitometry at 366 nm. The method was validated for precision (intra- and inter-day), repeatability, and accuracy. Simple, specific, and sensitive method.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, quantitative analysis, densitometry, medicinal plants 32
- 92 088 J. LALLA, P. HAMRAPURKAR, T. WADHWA*, (*Dept. of Pharm. Anal., Principal K.M. Kundnani Coll. of Pharm., Worli, Mumbai 400 018, India): High-performance thin-layer chromatographic determination of satranidazole in its dosage form. J. Planar Chromatogr. **16**, 447-450 (2003). HPTLC of satranidazole and metronidazole on silica gel, prewashed with methanol, with chloroform - methanol 20:1 after equilibration for 10 min at 20°C. Visualization and quantitation by densitometry at 317 nm. Linearity of satranidazole between 200 and 1000 ng. Simple, specific, and sensitive TLC method.
Quality control, quantitative analysis, densitometry, satranidazole 32
- 92 089 J. LALLA*, P. HAMRAPURKAR, A. KULKARNI, H. MAMANIA, (*Flat No-701, Thakur Complex, Kandivli (E), Mumbai-400101, India): Quantitative analysis of homeopathic mother tincture of *Boerhaavia diffusa* Linn. by HPTLC employing the therapeutically active marker "Punarnavoside". J. Planar Chromatogr. **16**, 465-468 (2003). HPTLC of punarnavoside on

prewashed silica gel with toluene - ethyl acetate - acetic acid 30:15:1 with chamber saturation for 10 min. Visualization by spraying with 0.2% aqueous KMnO_4 solution or with Liebermann-Burchard, Fiegl test, and ethanolic ferric chloride solution. Simple validated quantitative method.

Quality control, purnanavoside

32

- 92 090 J.K. LALLA*, P.D. HAMRAPUKAR, K. GAURI, (*Dept. of Pharm. Anal., Principal K. M. Kundnani Coll. of Pharm., Worli, Mumbai 400 018, India): Standardization of the homeopathic mother tincture of *Calendula officinalis* Linn. J. Planar Chromatogr. **16**, 298-302 (2003). HPTLC of rutin and quercetin on silica gel, pre-washed with methanol, with n-butanol - acetic acid - water 36:5:5 and toluene - chloroform - acetone - acetic acid 4:4:4:1, respectively. Visualization and quantitation by densitometry at 366 nm. The method was validated using calibration standards of rutin trihydrate and quercetin regarding specificity, limits of detection and quantitation, precision, accuracy and linearity.

Quality control, quantitative analysis, densitometry, rutin, quercetin

32

- 92 091 T. LI (Li Tong)*, ZH. ZHAO (Zhao Zhijun), L DING (Ding Liyu), C. YANG (Yang Caiqin), J. WANG (Wang Jing), Z. YAO (Yao Zihua), (*Coll. Chem. & Environ. Sci., Hebei Univ., Baoding, Hebei 071002, China): (Study on the quality for Tongjingping capsules.) (Chinese). J. Chinese Trad. & Herb. Drugs, (Zhongcaoyao) **34**(4), 328-329 (2003). TLC on silica gel with 1) chloroform - ethyl acetate - methanol - isopropanol - formic acid 150:75:50:10:1, 2) petroleum ether (60-90°C) - ethyl acetate 20:17, 3) benzene - ethyl acetate - formic acid 10:6:1. Detection 1) by spraying with 5% vanillin - H_2SO_4 4:1 in ethanol and heating, 2) by spraying with 5% potassium iodobismuthate in water, 3) by spraying with 1% FeCl_3 - 1% $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1:1. Identification by finger print technique.

Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, ferulic acid 32

- 92 092 A. LIU (Liu Anqiu)*, J. LI (Li Jianxiang), (*Hunan Xiangya Pharm. Co., Ltd., Changsha, Hunan 410013, China): (Study on the quality standard of Shenqinaoqing granules.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao) **25**(5), 360-362 (2003). TLC on silica gel with 1) butanol - ethyl acetate-water 4:1:5, 2) hexane - ethyl acetate 9:1, 3) petroleum ether (30-60°C) - ethyl formate - formic acid 15:5:1, 4) chloroform - methanol - water 13:7:2. Detection 1) by spraying with 10% H_2SO_4 in ethanol and heating at 105°C, 2) under UV 365 nm, 3) by exposure to ammonia vapor. Identification by finger print technique. Quantitation of astragaloside by densitometry at 530 nm. Discussion of use of the procedure for the quality control of the medicine.

Pharmaceutical research, quality control, herbal, densitometry, qualitative identification, astragaloside

32

- 92 093 L. LIU (Liu Lansheng)*, L. ZHANG (Zhang Li), (*Lanzhou Municip. Inst. Drug Cont., Lanzhou 730030, China): (Study of the quality standard for Banlong capsules.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao) **25**(4), 288-290 (2003). TLC of isopsoralen on silica gel with 1) hexane - ethyl acetate 4:1, 2) toluene - ethyl acetate - formic acid 5:5:3, 3) petroleum ether (60-90°C) - ethyl acetate 1:1. Detection under UV 365nm, UV 254 nm, under daylight. Identification by finger print technique. Quantitation of isopsoralen by densitometry at 250 nm. Discussion of use of the procedures for the quality control of the medicine.

Pharmaceutical research, quantitative analysis, densitometry, isopsoralen 32

- 92 094 Y. LIU (Liu Yarong), (Qinghai Inst. Drug Cont., Xining 810000, China): (Study of the quality standard for Tibetan Jingzhu Chongcao tablets.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med., (Zhongchengyao) **25**(3), 201-202 (2003). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - water 13:7:2, 2) chloroform - acetone 4:1. Detection 1) by spraying with 10% H_2SO_4 in ethanol and heating at 105°C for 5 min, 2) under UV. Identification by finger-print

- technique. Quantitation of astragaloside by densitometry at 520 nm. Discussion of use of the procedures for quality control of the medicine.
Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis, densitometry, astragaloside IV 32
- 92 047 M. LUCZKIEWICZ et al., see section 22
- 92 042 A. LUDWICZUK et al., see section 14
- 92 095 J. LUO (Luo Jie)*, W. LIN (Lin Weilan), D. WANG (Wang Deqing), W. ZHAO (Zhao Wen-chang), (*Guangzhou Baiyunshan Pharm. Fact. Chinese Med., Guanzhou 510515, China): (Study on the quality standard of Yejuhua granules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (*Zhongchengyao*) **25**(5), 363-365 (2003). TLC on silica gel with toluene - ethyl acetate - formic acid 20:10:3. Detection by spraying with 5% AlCl_3 in ethanol and heating at 105°C. Identification by finger print technique.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, chlorogenic acid 32
- 92 096 B. MALAWSKA*, K. KULIG, E. BENDIECK, (*Dept. of Pharm. Chem., Jagiellonian Univ. Med. Coll., Medyczna 9, 30-688 Krakow, Poland): Comparison of chromatographically determined values of the lipophilicity of anticonvulsant active N-substituted amides of α -arylalkylamine- γ -hydroxybutyric acid with values estimated by computational methods. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 390-395 (2003). TLC of 5 series of anticonvulsant active N-substituted amides of α -arylalkylamine- γ -hydroxybutyric acid (37 compounds) on RP-18 with mixtures of methanol, 0.1 M tris buffer pH 7.4, and acetic acid with chamber saturation. Visualization under UV 254 nm. Rapid, easy, and convenient method for determination of lipophilicity.
Pharmaceutical research, qualitative identification, 32
- 92 097 L. MI (Mi Lili)*, SH. ZHANG (Zhang Shuwen), J. SUN (Sun Jiajin), ZH. WANG (Wang Zhihua), X. HONG (Hong Xiaoqun), (*Shanghai TCM Univ., Shanghai 200032, China): (Study of nucleotides in Cordyceps and its mycelia by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (*Zhongchengyao*) **25**(5), 402-405 (2003). TLC on silica gel with chloroform - isopropanol - methanol - ethyl acetate - NH_3 conc. 80:30:30:30:9. Detection under UV 254 nm. Identification of by finger print technique. Quantitation by densitometry at 270 nm. Publication of the determination results of adenosine, uridine and guanosine in 14 drugs cultivated in different regions. Discussion of the discrepancy among the drugs from different sources, and use of the procedure for the screening and the quality control of the drugs.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, quantitative analysis, densitometry, adenosine, uridine, guanosine 32
- 92 098 K. MIGLECZI, I. KLEBOVIC*, E. MINCSOVICS, I. HAZAI, (*EGIS Pharmaceuticals Co. Ltd., Dept. of Pharmacokinetics, Keresztúri út 30-38, 1106 Budapest, Hungary): Application of planar radiochromatography in metabolic research. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 139-147 (2003). TLC of ^3H - or ^{14}C -labeled drugs on silica gel with e.g. n-butanol - acetic acid - water 4:1:1 or chloroform - hexane - ethanol - NH_3 conc. 75:15:9:1. Also OPLC of glyceryl trinitate and metabolites (glycerol di- and mononitrate) on silica gel with di-n-butylether. Detection by densitometry with phosphor imager or with DAR (digital autoradiography). Today three principal methods for detection of radioactivity are recognized, namely film autoradiography, radioluminography (i.e. storage phosphor imaging) and electronic radiography (linear analyzers, digital autoradiography, and β -imager).

- Pharmaceutical research, quantitative analysis, qualitative identification, autoradiography 32
- 92 099 G. MISZTAL*, L. KOMSTA, (*Dept. of Med. Chem., Med. Univ., 6 Chodzki, 20-093 Lublin, Poland): The retention behavior in normal-phase chromatographic systems of some fibrates-type antihyperlipidemic drugs. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 351-358 (2003). TLC of bezafibrate, ciprofibrate, clofibrate, clofibric acid, fenofibrate, and gemfibrozil on silica gel, aluminium oxide, amino-, diol-, and cyano-modified silica gel and polyamide 11 with mobile phases containing hexane as weakly polar diluent and five polar modifiers: acetone, dioxane, methyl ethyl ketone, ethyl acetate, and tetrahydrofuran. Visualization under UV 254 nm. Quantitation by videodensitometry and densitometry.
Pharmaceutical research, quantitative analysis, densitometry, fibrates-type antihyperlipidemic drugs 32
- 92 100 G. MISZTAL* B. PAW, R. SKIBINSKI, I. KOMSTA, J. KOLODZIEJCZYK, (*Dept. of Med. Chem., Med. Acad., 6 Chodzki, 20-093 Lublin, Poland): Analysis of non-selective calcium-channel blockers by reversed-phase TLC. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 433-437 (2003). TLC of prenylamine, lidoflazine, bepridil hydrochloride, and fendiline hydrochloride on RP-8 and RP-18 altering the pH and the concentration of organic modifier (methanol, ethanol, tetrahydrofuran, acetonitrile) in the aqueous phase. On RP-8 the best separation was achieved with 50% acetonitrile in pH 2.06 phosphate buffer and on RP-18 with 50% ethanol in pH 2.06 phosphate buffer. Detection under 254 nm and videodensitometric determination. New TLC procedure.
Pharmaceutical research, qualitative identification, prenylamine, lidoflazine, bepridil hydrochloride, fendiline hydrochloride 32
- 92 101 S. NARASIMHAN, M. VIJAYAKUMAR, S. MEHROTRA*, (*Pharmacogn. and Ethnopharmacology Div., Nat. Bot. Res. Inst., Rana Pratap Marg, P.O. Box 436, Lucknow-226 001, India): A new spray reagent for detection and differentiation of sulfur compounds in plant extracts. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 468-469 (2003). HPTLC of plant extracts with different sulfur-containing groups (e.g. allicin and disulfides) on silica gel with toluene - ethyl acetate 10:3 for *Allium* extracts and toluene - ethyl acetate 7:3 for *Ferule foetida* extracts. Visualization by spraying with a solution of 3 g bismuth nitrate in 5 mL concentrated nitric acid and dilution to 100 mL with water. Alternatively, a solution of 3 g bismuth nitrate in 100 mL acetone can be used; in addition observation under UV 254 and 366 nm. Densitometry at 417 nm for allicin and at 392 nm for disulfides.
Qualitative identification, herbal, biochemistry, allicin, disulfides 32
- 92 102 T. PENG (Peng Tuohua)*, F. ZENG (Zeng Fan), H. ZHONG (Zhong Honglan), X. FANG (Fang Xiaotang), (*Guangdong Prov. Inst. Pharm., Guangzhou 510440, China): (Determination of valine in Dilong injections by thin-layer chromatography.) (Chinese). TLC on silica gel with butanol - acetic acid - water 8:1:2. Detection by spraying with ninhydrin reagent and heating. Identification by finger print technique. Quantitation of valine by densitometry at 487 nm.
Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis, densitometry, valine 32
- 92 053 N.U. PERISIC-JANJIC et al., see section 24
- 92 103 N.U. PERISIC-JANJIC*, T.L. DJAKOCIC-SEKULIC, K. POPOV-PERGAL, (*Dept. of Chem., Fac. of Sci., Univ. of Novi Sad, Trg D. Obradovica 3, 21000 Novi Sad, Serbia and Montenegro): Effect of the stationary phase and the mobile-phase modifier on the retention of some thiazoles. Correlation with the lipophilicity of the compounds. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 363-368 (2003). Study of structure-activity relationship TLC of 12 differently substi-

tuted 2,4-dioxotetrahydro-1,3-thiazoles (4'-dimethylamino-benzylidene-, 1'-naphthylidene-, 2'-oxybenzylidene-, 3',4'-methylenedioxybenzylidene-, benzylidene-, 3'-thienylidene-, 3',4'-dimethoxybenzylidene-, 4'-bromobenzylidene-, 5'-methyl-2'-furfurylidene-, 4'-benzyloxybenzylidene-, 4'-ethoxybenzylidene-) on silica gel with hexane - ethyl acetate, hexane - acetone, and hexane - dioxane and on paraffin oil-impregnated silica gel with NH₃ conc. - methanol, NH₃ conc. - dioxane, and NH₃ conc. - acetone in different ratios. Visualization under UV 254 nm.

Qualitative identification, thiazoles

32

92 004 N.U. PERISIC-JANJIC et al., see section 2

92 104 N.U. PERISIC-JANJIC*, B.Z. JOVANOVIĆ, N.J. JANJIC, O.S. RAKOVIĆ, D.G. ANTONOVIĆ, (*Dept. of Chem., Fac. of Sci., Trg Dositeja Obradovića 3, 21 000 Novi Sad, Serbia and Montenegro): Study of the retention behavior of newly synthesized s-triazine derivatives in RP TLC systems, and the lipophilicity of the compounds. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 425-432 (2003). HPTLC of 9 new s-triazines (e.g. 2,4-bis(cyclopropylamino)-6-chloro-s-triazine, 2,4-bis(cyclobutylamino)-6-chloro-s-triazine etc.) on RP-18, cyano- and amino-modified silica gel with water - tetrahydrofuran, water - dioxane, and water - acetonitrile mixtures. Detection under UV 254 nm.

Pharmaceutical research, qualitative identification, s-triazine derivatives 32

92 005 N.U. PERISIC-JANJIC et al., see section 2

92 105 N.U. PERISIC-JANJIC, B. LUCIĆ, N.J. JANJIC, D. AGBABA*, (*Inst. of Pharm. Chem. and Drug Anal., Fac. of Pharm., Vojvode Stepe 450, P.O. Box 146, 11000 Belgrade, SCG.): Study of the lipophilicity and retention behavior of some beta-adrenoceptor antagonists. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 347-350 (2003). HPTLC of beta-adrenoceptor antagonists (e.g. betaxolol HCl, propranolol HCl, celipronol HCl, oxprenolol, carvedilol, metoprolol tartrate, atenolol) on RP-18 with water - acetonitrile and water - dioxane mixtures in different ratios. Visualization under UV 254 nm.

Pharmaceutical research, qualitative identification,
beta-adrenoceptor antagonists

32

92 106 R. SLAVESKA-RAIKI, V. RAFAJLOVSKA*, V. RIZOVA, I. SPIREVSKA, (*Fac. of Techn. and Metallurgy, Rudjer Boskovic St 16, Skopje, R. Macedonia): HPTLC determination of gallic acid and tannin in extracts of bearberry leaves. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 396-401 (2003). HPTLC of gallic acid and tannin on cellulose with iso-butanol - acetic acid - water 14:1:3.5 and on silica gel with chloroform - ethanol - formic acid 5:4:1 in a saturated chamber. After drying visualization under UV light at 254 nm. Quantitation by densitometry at 280 nm in absorbance mode. The validated method was found to be simple, reliable, and convenient for routine analysis. Establishment of a validated procedure.

32

92 107 T. SLAWIK*, B. PAW, (*Dept. of Med. Chem., Med. Univ. of Lublin, 6 Chodzki Street, 20-093 Lublin, Poland): RPTLC determination of the lipophilicity of 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one derivatives substituted in the heterocyclic ring. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 442-446 (2003). TLC of 8 new substituted 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one derivatives on RP-18 with methanol - water, methanol - pH 1.95 glycine buffer and methanol - pH 10.0 glycine buffer at 20°C. Visualization under UV 254 nm.

Pharmaceutical research, qualitative identification,
1,2-benzisothiazol-3(2H)-one derivatives

32

- 92 108 B. TANG (Tang Bing), (Beihai Municip. Inst. Drug Cont., Beihai, Guangxi 536000, China): (Identification of ingredients in Kangji Xiaoke pills by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (Zhongchengyao) **25**(4), 339-340 (2003). TLC on silica gel with 1) chloroform - ethyl acetate - methanol - water 3:8:4:2, 2) butanol - acetic acid-water 7:1:2, 3) toluene - ethyl acetate 9:1. Detection by 1) by spraying with 10% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105°C, 2) under UV 365 nm, 3) by spraying with 10% phosphomolybdic acid in ethanol and heating at 105°C. Identification of ginsenosides Re, Rg1, berberine hydrochloride, Wuweizi ester by finger print technique.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, ginsenosides Re, Rg1, berberine hydrochloride, Wuweizi ester 32
- 92 109 I. VOVK*, M. KOVAC, B. SIMONOVSKA, H. VUORELA, P. VUORELA, (*Lab. for Food Chem., Nat. Inst. of Chem., Hajdrihova 19, 1001 Ljubljana, Slovenia): Cellulose HPTLC plates in the separation of selected flavan-3-ols using aqueous eluents. *Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom.* 25-39 (2003). TLC and HPTLC of selected flavan-3-ols [e.g. (+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin, (+)-catechin gallate, (-)-epicatechin gallate, epicatechin-(4β@8)-catechin, epicatechin-(4β@8)-epicatechin] on cellulose. The developing solutions consisted of aqueous solutions containing acetone, acetic acid, tetrahydrofuran, acetonitrile, ethyl acetate, methanol, ethanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, and 2-butanol as organic modifiers in various concentrations. TLC in twin-trough chambers (saturated and unsaturated) and in horizontal developing chambers, used in tank and sandwich configuration. Separations were performed at ambient temperature and humidity (20-24°C, 46-56%). Visualization after drying by immersion for 1 s into vanillin/phosphoric acid reagent. The final optimized HPTLC method with water - 1-propanol - acetic acid 80:20:1 provided a fast separation of the flavan-3-ols studied with satisfactory resolution. Ready-to-use cellulose plates must be prewashed with water. In most cases the development in horizontal chamber with sandwich configuration gave the best resolution.
Food analysis, herbal, flavan-3-ols 32
- 92 030 I. VOVK et al., see section 10
- 92 110 G. WANG (Wang Guihua)*, S. HUANG (Huang Siyuan), (*Leshan Municip. Inst. Drug Cont., Leshan, Sichuan 614000, China): (Identification of Zhishu Yangwei pills by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (Zhongchengyao) **25**(4), 340-341 (2003). TLC on silica gel with 1) chloroform - ethyl acetate - methanol 9:1:2 with traces of formic acid, 2) benzene - ethyl acetate 9:1, 3) butanol - acetic acid - water 7:1:2. Detection by 1) by spraying with 5% vanillin in H₂SO₄ solution in ethanol and heating, 2) under day light, 3) under UV 365 nm. Identification by finger print technique. Discussion of using the procedures as the simple method for the quality control of the medicine.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification 32
- 92 111 W. WEI (Wei Wenpeng), (Inst. Zhanjian Municip. Drug Cont., Zhanjiang, Guangdong 524037, China): (Identification of Yigan Fuzheng granules by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (Zhongchengyao) **25**(5), 428-429 (2003). TLC on silica gel with 1) toluene - ethyl acetate - formic acid 15:2:1; 2) petroleum ether (60-90°C) - ethyl acetate 4:1; 3) petroleum ether (60-90°C) - ethyl acetate 7:3; 4) benzene - ethyl acetate - acetic acid 18:1:1. Detection 1) by exposure to ammonia vapor; 2) under UV. Identification of by finger print technique. Discussion of use of the procedure for the rapid quality control of the medicine.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, Chinese traditional medicine 32

- 92 112 H. WEN (Wen Hongmei)*, W. LI (Li Wei), A. ZHANG (Zhang Aihua), G. PENG (Peng Guoping), ZH. ZHANG (Zhang Zhengxing), (*Nanjing Univ. TCM, Nanjing 210029, China): (Study on the quality standards for Zhixuan granules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (*Zhongchengyao*) **25**(6), 454-456 (2003). TLC on silica gel with 1) benzene - acetone 5:1, 2) petroleum ether (60-90°C) - ethyl acetate 3:1. Detection 1) by spraying with 2% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105° for 10 min, 2) by spraying with 4% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105°C for 10 min. Identification by finger print technique.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, 23-acetate alisol 32
- 92 113 SH. WU (Wu Shaojie)*, ZH. YANG (Yang Zhijuan), L. ZHU (Zhu Lihua), F. JIN (Jin Fengxie), (*North China Coal Med. Coll., Tangshan, Hebei 114001, China): (Study on the biotransformation of glycyrrhizin.) (Chinese). *J. Chinese Trad. & Herb. Drugs*, (*Zhongcaoyao*) **34**(6), 516-518 (2003). TLC of the zymolysed glycyrrhin and the fermentation solution on silica gel with butanol - acetic acid-water 4:1:2. Detection under UV 365 nm. Identification of monoglucuronyl-glycyrrhetic acid (MGGA) by comparison with the standard. Quantitation by densitometry at 360 nm. Calculation of the transformation rate of the zymolysed and fermented products. Optimization of the condition for the biotransformation of the title compound. Discussion of use of the procedure in preparation of MGGA and the study of its physiological activity.
Pharmaceutical research, herbal, densitometry, qualitative identification, glycyrrhizin, monoglucuronyl-glycyrrhetic acid (MGGA) 32
- 92 114 L. WULANDARI, G. INDRAYANTO*, (Dept. of Nat. Prod., Fac. of Pharm., Airlangga State Univ., Jl. Dharmawangsa dalam, Surabaya 60286, Indonesia): HPTLC determination of betamethasone in tablets and its validation. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 2709-2717 (2003). HPTLC of betamethasone on silica gel with chloroform - methanol - water 36:10:1. Quantitation by densitometry at 245 nm. The method was tested for linearity, homogeneity, detection limit, accuracy, and working range. Mean recovery 99.2-100.1%. Selective, precise, and accurate procedure.
Quality control, quantitative analysis, densitometry, betamethasone 32
- 92 115 L. WULANDARI, G. INDRAYANTO*, (*Plant BioTechn. Res. Group, Fac. of Pharm., Airlangga Univ., Jl. Dharmawangsa dalam, Surabaya 60286, Indonesia): Densitometric determination of betamethasone dipropionate and salicylic acid in lotions, and validation of the method. *J. Planar Chromatogr.* **16**, 438-441 (2003). TLC on silica gel with ethanol (96%) - toluene - chloroform - acetic acid 12:40:28:1 after saturation for at least 2 h at ambient temperature (25°C). Densitometry in absorbance mode between 200 and 400 nm. Quantification at 250 nm for betamethasone dipropionate and at 310 nm for salicylic acid. The method was validated for linearity, homogeneity, detection limit, accuracy, and working range. A cheap, rapid, and simple validated TLC method.
Quality control, quantitative analysis, densitometry, betamethasone dipropionate, salicylic acid 32
- 92 116 H. YANG (Yang Hongwu)*, ZH. WANG (Wang Zheng), M. XIN (Xin Mintong), P. WANG (Wang Ping), (*Liaoning Northern Bio. Pharm. Group Ltd., Shenyang 110003, China): (Determination of cholic acid in artificial calculus bovis and its preparation by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (*Zhongchengyao*) **25**(4), 290-293 (2003). TLC of cholic acid on silica gel with 1) hexane - ethyl acetate - acetic acid - methanol 20:25:2:3. Detection by spraying with 10% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105°C, and under UV 365 nm. Identification by comparison with the standard. Quantitation by densitometry at 380 nm.

- Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis,
densitometry, cholic acid 32
- 92 117 X. YE (Ye Xiaoqiang), (Hechuan Inst. Drug Cont., Wuzhou, Guangxi 543001, China): (Study on the quality standard for Jinzhitai capsules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (*Zhongchengyao*) **25**(4), 284-288 (2003). TLC on silica gel with 1) cyclohexane - ethyl acetate - formic acid 60:20:1, 2) chloroform - ethyl acetate - formic acid 12:7:1, 3) chloroform - methanol - NH₃ 90:10:1, 4) petroleum ether (60-90°C) - hexane - ethyl acetate - formic acid 10:20:24:1. Detection 1) by exposure to ammonia vapor, 2) by spraying with 10% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105°C, 3) under daylight. Identification by finger print technique.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, quantitative analysis,
emodin, chrysophenol, physcion 32
- 92 118 T. YRJÖNEN, I. VOVK, B. SIMONOVSKA, O. MOUSA, R. HILTUNEN, H. VUORELA, P. VUORELA*, (*Dept. of Pharm., Vikki Drug Discovery Techn. Center, Univ. of Helsinki, P.O. Box 56, Viikinkaari 5E, Fin-00014 Finland): Comparison of medium pressure solid-liquid extraction and rotation planar extraction of Ficus leaves with reference to optimum operating parameters. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **26**, 3289-3305 (2003). TLC of extracts from Ficus sycomorus L. on silica gel with hexane - ether - 1,4-dioxan - ethanol 39:5:3:3 optimized by use of the "PRISMA" system. Visualization under UV 254 and 366 nm. Quantitation by densitometry.
Pharmaceutical research, qualitative identification, herbal,
extracts from Ficus sycomorus L 32
- 92 119 M. ZHANG (Zhang Mingxu)*, J. LI (Li Jian), (*Dept. Pharm., Guiyang Coll. TCM, Guiyang, Guizhou 550002, China): (*Determination of matrine in Meilupijiling by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (*Zhongchengyao*) **25**(6), 518-520 (2003). TLC on silica gel with benzene - acetone - ethyl acetate - NH₃ conc. 10:15:20:1. Detection by spraying with 5% potassium iodobismuthate solution and 5% sodium nitrite solution. Identification by finger print technique. Quantitation of matrine by densitometry at 480 nm.
Pharmaceutical research, quality control, herbal,
quantitative analysis, matrine 32
- 92 120 SH. ZHU (Zhu Shanyin)*, H. XU (Xu Honhjie), B. XU (Xu Bengen), (*Jiaxing Municipal Inst. Drug Cont., Jiaxing, Zhejiang Prov. 314001, China): (Comparing identification between Cassia obtusifolia L and C. sophora L.) (Chinese). *J. Chinese Trad. & Herb. Drugs*, (*Zhongcaoyao*) **34**(4), 378-380 (2003). TLC on silica gel with petroleum ether (30-60°C) - ethyl formate - formic acid 15:5:1. Detection under UV 365nm. Identification by finger-print technique. Comparison also by microscopy and UV spectroscopy, as well as visual characters.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, quantitative analysis 32
- 92 121 W. ZHU (Zhu Wenrong), (Jiangyin Tianjiang Pharm. Co., Ltd., Jianyin, Jiangsu 214429, China): (Study on the quality control for compound Chuipencao granules.) (Chinese). TLC on silica gel with 1) benzene - butanone - methanol 3:1:1, 2) chloroform - methanol 4:1. Detection 1) under UV 365 nm, 2) by spraying with a solution of 1% iodine - 3% sodium azide 1:1 and heating. Identification by finger print technique.
Pharmaceutical research, quality control, isorhamnetin-3-7-D-glucoside 32

33. Inorganic Substances

- q92 122 R.M. BAOSIC, D.M. MILOJKOVIC-OPSENICA, Z.L. TESIC*, (*Fac. of Chem., Univ. of Belgrade, Studentski trg 16, P.O. Box 158, 11001 Belgrade, Serbia and Montenegro): The effect of substituents in β -ketoiminato ligand of copper(II) and nickel(II) complexes on their retention in polyacrylonitrile thin layer. Proc. Intern. Symp. on Planar Separations Plan. Chrom. 197-202 (2003). Investigation of structure-retention relation TLC of 24 copper(II) and nickel(II) complexes on a polyacrylonitrile sorbent with 12 different solvents (six mono-, four two-component and two aqueous solvents) in a horizontal developing chamber after presaturation for 30 min. After development, the colored spots of the complexes were readily visible.

Qualitative identification, copper(II) and nickel(II) complexes 33

- 92 123 A. ORINAK*, M. ADAMOVA, L. HALAS, P. TOMCIK, M. JUSTINOVA, (*Univ. of P.J. Safárik, Inst. of Chem., Dept. of Phys. and Anal. Chem., Moyzesova 11, 041 54 Kosice, Slovak Republic): Reagents for the detection of carboxylate anion ligands after chromatographic separation of zinc carboxylate complexes. J. Planar Chromatogr. **16**, 286-288 (2003). TLC of zinc(II) butyrate, zinc(II) isobutyrate, and zinc acetate on silica gel, prewashed with water – methanol, with 2-propanol - water 2:3 and pure redistilled water and on anion exchange layers with dioxane - water 3:2. Detection by derivatization with bromophenol blue, bromocresol green, and thymol blue indicator solutions, directly on the wet layer. Bromocresol green (0.5% solution + 5 mL 0.1 M NaOH) resulted in most sensitive detection of the carboxylates tested. The detection limit for this reagent and butyrate anion was established as 0.03 mg/L. New detection procedure.

Zinc(II) butyrate, zinc(II) isobutyrate, zinc acetate 33

35. Other Technical Products and Complex Mix

- 92 124 T. CSERHATI*, E. FORGACS, Z. ILLES, (*Inst. of Chem., Chem. Res. Center, Hungarian Acad. of Sci., P.O. Box 17, 1525 Budapest, Hungary): TLC study of the binding of nonionic surfactants to the corn protein zein. J. Liq. Chrom. & Rel. Technol. **26**, 2751-2761 (2003). TLC of nonionic surfactants (Arkopal N40, 50, 60, 80, 90, 100, 130, 150, 230, 300, Saponenate T60, 100, 110, 130, 138, 180, 300, 500) on zein-coated aluminium oxide prepared by dissolving 0.5 g zein in a mixture of 160 mL propanol and 40 mL water and adding to 20 g aluminium oxide, removal of the solvents at 70°C in vacuum and coating of plates with a suspension of 5 g of stationary phase and 14 mL water. Bidistilled water and water - methanol mixtures containing 5, 10, and 15 vol.% methanol were used as stationary phases. Developments were also carried out in aqueous solutions of 0.5, 1.0, 2.0, 3.5, 4.0, and 5.0 M LiCl, as well as e.g. aqueous solutions of 4 M NaCl, 4 M KCl, 4 M RbCl, 4M NH₄Cl etc. After drying at 105°C, the surfactants were detected by exposure to iodine vapor.

Qualitative identification, nonionic surfactants 35

Wie international war das HPTLC Symposium in Lyon 2003?



14

▲ Das Organisationskomitee (von links nach rechts): L. Vicard, P. Bernard-Savary, E. Tavel, J. Wajsman, »Les Quatre Mousquetaires« de Symposium



15

▲ Schnapsschuss vom Cruising Dinner: Internationale Wissenschaftler bereit, französische schäumende soft drugs zu testen (von links nach rechts) Anna Pelander (Fin), Illka Ojanperä (Fin), Susan Mayfield (GB), Michael Lancaster (GB), Andrew Handford (GB)

Das Internationale Symposium für HPTLC in Lyon, 15.–18. Oktober 2003 war ein Erfolg! 107 Wissenschaftler aus 16 Ländern nahmen teil. Den Vorsitz in den drei wissenschaftlichen Tagungsabschnitten führten bekannte Persönlichkeiten, Friedrich Geiss, Klaus Burger und A.M Siouffi.

Bemerkenswerte Highlights waren der Vortrag von Iuliana Popa über immuno-staining HPTLC von Lipiden und der von Nico Vervoort zur shear-driven flow Chromatographie. Natürlich wurden die traditionellen Interessenschwerpunkte der pharmazeutischen Industrie wie Clean-up Validierung, Validierung der Bestimmung von Naturstoffen sowie Toxikologie angesprochen. Bedauerlich war vielleicht, dass Anwendungen der HPTLC bei der Lipidanalytik, wo die HPTLC im Vergleich zu anderen Methoden klare Vorteile zeigt, etwas kurz kamen.

Poster-Präsentationen wurden parallel zu einer Firmenausstellung abgehalten, an der alle namhaften Hersteller von Produkten für die HPTLC beteiligt waren.

Die meisten Symposiumsteilnehmer nutzten die Gelegenheit, sich an den zwei Workshops zu beteiligen, die vor dem eigentlichen Symposium stattfanden und die von Gerda Morlock geleitet wurden. Auch altgediente Adepten der ihnen »wohl geläufigen« Methode zeigten sich begeistert, viele interessante Tipps und Erklärungen zu beobachteten Phänomenen zu erhalten.

Auch die Firmenvorträge am Morgen des letzten Tages wurden von einer stattlichen Anzahl motivierter Symposiumsteilnehmer besucht.

Die Webseite des Symposiums wird weiter offen gehalten und gepflegt. Inzwischen sind die meisten Vorträge und Posterabstracts online vorhanden.

Gut angekommen sind auch die gesellschaftlichen Anlässe wie ein Dinner Cruise auf der Rhone an Bord der »Hermes« bis Freitag spätnachts sowie die Ausflüge am Samstag nachmittag nach Lyon und Umgebung in die Weingärten und zum Kloster Grand Chartreuse mit seiner Brantwein-Destillerie.

Konvertierung eines Gradienten vom AMD1 zum AMD2 System



16

Dr. Ursula Wippo

Im Rahmen ihrer Doktorarbeit über die Bestimmung von thermolabilen und nichtflüchtigen Pflanzenschutzmittel-Rückständen in pflanzlichen Lebensmitteln im Arbeitskreis von Prof. H.-J. Stan, Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin erarbeitete Frau Wippo* ein Verfahren zur Konvertierung eines AMD1 Gradienten in einen für AMD2 geeigneten.

Einleitung

Die Weiterentwicklung des AMD-Systems führte zum anwenderfreundlicheren, softwaregesteuerten AMD2, bei dem alle Abläufe aktiv gesteuert werden. Der Lösungsmittelmischer wurde so konstruiert, dass für jeden Entwicklungsschritt das Fließmittel frei gewählt werden kann, während beim AMD1-System das Fließmittel sukzessive aus dem zuvor verwendeten aufgemischt wurde. Als Nebeneffekt ergab sich eine Einsparung an Lösungsmittel. Auch die Laufstreckengenauigkeit wurde entscheidend verbessert, indem sie nunmehr aktiv überwacht und nicht mehr über die Zeit gesteuert wird.

Berechnung der Konvertierung

Die Konvertierung eines AMD1-Gradienten ist hilfreich, wenn Analysenverfahren, die für AMD1 erarbeitet wurden, für AMD2 übernommen werden sollen. Zur Anpassung der Gradienten wurde ein Berechnungsprogramm erstellt, das die Fließmittelzusammensetzung des AMD1-Gradienten in einer Excel-Tabelle in die Fließmittelzusammensetzung für einen AMD2-Gradienten berechnen kann. Dabei wird berücksichtigt, dass im AMD1-System das Fließmittel sukzessive vermischt und nur eine prozentuale Änderung der effektiven Fließmittelzusammensetzung (nach einem Flaschenwechsel 19% und ohne Flaschenwechsel 35%) erreicht werden kann.

Die dafür entwickelte Formel fragt¹:

- Ob der Mischer vor dem Start des Laufes geleert wurde. Falls ja, wird die Fließmittelzusammensetzung auf 100% der neuen Flasche gesetzt.
- Ob ein Flaschenwechsel stattgefunden hat.
Falls ja, wird die Fließmittelzusammensetzung nach folgender Formel berechnet:
$$= 0,81 \times \text{Fließmittelzusammensetzung des letzten Laufes} + 0,19 \times \text{Fließmittelzusammensetzung der aktuellen Flasche}$$

Falls nein, wird die Fließmittelzusammensetzung nach folgender Formel berechnet:
$$= 0,65 \times \text{Fließmittelzusammensetzung des letzten Laufes} + 0,35 \times \text{Fließmittelzusammensetzung der aktuellen Flasche.}$$

Für diese Berechnung wird zunächst der vorgegebene AMD1-Gradient in das Excel-Blatt eingegeben.

¹Nachfolgende Farben kennzeichnen die entsprechenden Teile in der Formel 1

	A	B	C	D	E	F
9		Schritt	Flasche 1	Flasche 2	Flasche 3	Flasche 4
10		1	100			
11		5	50	50		
12		11		100		
13		17			100	
14		21			50	50
15		26				100
16						
17	Mixer leeren vor Schritt	31				

Excel-Tabelle mit ehemaligem AMD1-Gradienten
 Flasche 1: Methanol – Dichlormethan - HCOOH 12:88:0,1
 Flasche 2: Dichlormethan - HCOOH 100:0,1
 Flasche 3: Dichlormethan
 Flasche 4: n-Hexan

Im zweiten Arbeitsschritt werden im selben Datenblatt die in nachfolgender Tabelle dargestellten Berechnungsformeln eingegeben, und der AMD2-Gradient wird automatisch durch das Excelprogramm berechnet.

	J	K	L	M	N	O
1	Schritt	=C9	=D9	=E9	=F9	...
2	1	=C10	=D10	=E10	=F10	...
3	2	Formel 1	Formel 2	Formel 3	Formel 4	...
4	3	Formel 1 kopiert	Formel 2 kopiert	Formel 3 kopiert	Formel 4 kopiert	...

Zur besseren Orientierung in der Formel 1 wurden die verschiedenen Zellen farblich markiert.

Formel 1:

```
=WENN($J3=$B$17;SVERWEIS($J3;$B$9:
$H$15;2;WAHR);WENN(ODER($J3=$B$10;
$J3=$B$11;$J3=$B$12;$J3=$B$13;$J3=
$B$14;$J3=$B$15);0.81*K2+0.19*SVERWEIS
($J3;$B$9:$H$15;2;WAHR);0.65*K2+0.35*SVER
WEIS($J3;$B$9:$H$15;2;WAHR)))
```

In den Formeln 2 bis 4 wird die Formel 1 kopiert und lediglich die Spaltennummer 2 (die in der Formel 1 unterstrichen ist) durch 3, 4 bzw. durch 5 ersetzt.

Das Ergebnis der Konvertierung des gewählten AMD-Gradienten ist nun aus der Excel-Tabelle in das AMD2-Gerät direkt übertragbar.



CAMAG AMD2 System (Automatisierte Mehrfachentwicklung)

Frau Wippo hat sich in Ihrer Doktorarbeit intensiv mit dem AMD System beschäftigt. AMD wird dann eingesetzt, wenn die gewünschte Trennleistung auf der zur Verfügung stehenden Trennstrecke mit einstufiger isokratischer Entwicklung nicht zu erreichen ist. Das kann der Fall sein bei grossem Polaritätsbereich der zu trennenden Komponenten, bei hoher und unterschiedlicher Matrixbelastung sowie generell bei Vielkomponenten-Gemischen.

Zur Trennung von Proben, deren Komponenten einem weiten Polaritätsbereich angehören, arbeitet man mit einem Universalgradienten, der von hoher Elutionskraft zu extrem schwacher reicht. Zur Trennung von Substanzgemischen aus einem engeren Polaritätsbereich benutzt man einen entsprechend angepassten flachen AMD-Gradienten.

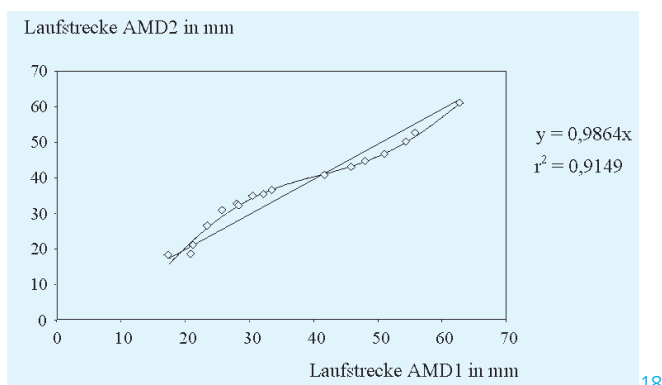
AMD ermöglicht die reproduzierbare Gradientenelution an Kieselgel, da die Schicht nur einmal verwendet wird. Auch entfällt die in der Säulenchromatographie übliche zeitaufwendige Konditionierung. Der AMD-Gradient beginnt mit dem elutionsstärksten Fließmittel und endet mit dem unpolarsten. Mit dem polarsten Fließmittel wird über die kürzeste, mit dem unpolarsten über die längste Laufstrecke entwickelt. Durch die Mehrfachentwicklung wird eine Fokussierung der Zonen erreicht und die Peakschärfe verbessert. Auch ist die Reproduzierbarkeit der Laufstrecken robuster gegenüber Matrixeffekten.

Erprobung

Die Übertragbarkeit der Gradienten durch diese Berechnung wurde anhand dreier Gradienten geprüft. Für die Versuche wurden Pestizide ausgewählt, die den gesamten Laufstreckenbereich abdecken. Es wurden 500 ng je Pestizid auf eine HPTLC-Platte appliziert und mit den verschiedenen Gradienten in jeweils beiden AMD-Systemen entwickelt. Die Detektion erfolgte mit dem Mehrwellenlängen-Scan bei 200 bis 300 nm.

Zur Auswertung der Versuchsreihen wurden die in beiden AMD-Systemen ermittelten Laufstrecken der einzelnen Analyten in einem Diagramm gegeneinander aufgetragen und verglichen. Bei guter Übereinstimmung sollten die in beiden Gradienten erreichten Laufstrecken für die einzelnen untersuchten Analyten jeweils gleich sein. Die zu berechnende Ausgleichsgerade sollte im Idealfall eine Steigung von eins und eine Korrelation von grösser 0,99 aufweisen.

Nachfolgende Abbildung zeigt exemplarisch die Gegenüberstellung der Laufstrecken ausgewählter Pestizide, die mit einem Gradienten im AMD1- und AMD2-Gerät erhalten wurden. Unter der Annahme eines linearen Zusammenhangs wurde die Geradengleichung und ihre Korrelation mittels Excel berechnet und dargestellt. Ausserdem wurde unter Annahme eines polynomen Zusammenhangs die Trendlinie eingezeichnet.



▲ Vergleich der Laufstrecken ausgesuchter Analyten nach Entwicklung in einem 30 Stufen-Gradient auf Basis von Dichlormethan im AMD1- und AMD2-System

Ergebnisse

Die Konvertierung von AMD1-Gradienten zu AMD2-Gradienten durch das vorgestellte mathematische System ist praktikabel. Wesentliche Unterschiede der Laufstrecken treten nur dann auf, wenn die Trocknungszeiten in schon bestehenden AMD1-Gradienten ungünstig, d. h. zu niedrig, gewählt wurden.

Durch weitere Versuche (hier nicht aufgeführt) wurde belegt, dass die Trocknung der HPTLC-Platten im AMD2-System besser als im AMD1-System verläuft. Etwaige Abweichungen der Laufstrecken in beiden Systemen können aufgrund dieser unterschiedlichen Trocknung erklärt werden.

Weitere Informationen sowie die oben genannte Excel-Berechnungsdatei sind von CAMAG oder Frau Wippo auf Anfrage erhältlich.

* Dr. Ursula Wippo, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3, D-53175 Bonn, Tel. +49-(0)228-2074182, wippo@bfarm.de

Qualitätskontrolle von *Stephania tetrandra*



19

Anne Blatter



20

Dr. Eike Reich

Nachfolgender Beitrag von Anne Blatter und Eike Reich ist die Zusammenfassung eines Artikels, erschienen im DC-Sonderheft des Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. Diese beiden Fachleute auf dem Gebiet Planar-Chromatographie pflanzlicher Drogen sind Ihnen sicher bekannt. Frau Blatter wurde bereits im CBS 88 vorgestellt. Sie trat nach ihrer Diplomarbeit 2001 dem CAMAG Labor bei. Dr. Reich ist Leiter des Labors seit 1998.

Einleitung

Während die traditionelle chinesische Medizin (TCM) auch in westlichen Ländern an Akzeptanz gewinnt, haben Sicherheitsrisiken bei einigen Pflanzenarten wie z. B. *Stephania tetrandra* die Behörden weltweit veranlasst, analytische Methoden von Pflanzen hinsichtlich ihrer richtigen Identifizierung und Qualitätskontrolle zu überdenken. Zwei kosteneffiziente, zuverlässige und schnelle HPTLC-Methoden werden nachfolgend dargestellt, die in der Industrie und von den Behörden für eine verantwortungsvolle Qualitätskontrolle von *Stephania* eingesetzt werden können. Die HPTLC-Methode kann sowohl zur qualitativen als auch zur quantitativen Bestimmung mit dem gleichen chromatographischen System eingesetzt werden:

1. Ein spezifischer Fingerprint der Pflanze mit dem Hauptalkaloid Tetrandrin als chemische Referenzsubstanz sichert die Identität vom Pflanzenmaterial.
2. Die quantitative Bestimmung der Leitsubstanz Tetrandrin klärt ab, ob die vorliegende Charge den vorgegebenen Akzeptanzkriterien entspricht.

Probenvorbereitung

1. Zur qualitativen Identifizierung werden 200 mg pulverisierte Droge im Ultraschallbad mit 10 mL Methanol – Wasser – Ameisensäure 40:9:1 für 10 min extrahiert, anschließend zentrifugiert. Als Referenz wird 1 mg Tetrandrin in 1 mL Methanol gelöst.
2. Zur quantitativen Bestimmung werden 50 mg pulverisierte Droge für 2 h in der Soxhlet-Apparatur mit 50 mL alkalischem Methanol (5% konz. Ammoniak) extrahiert. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Extrakt mit Methanol auf 50 mL aufgefüllt. Als Standard wird eine methanolische Tetrandrin-Lösung (0.025 mg/mL) eingesetzt.

Schicht

HPTLC-Platten Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck), 20 × 10 cm

Probenauftragung

Bandförmig mit DC-Probenautomat 4, maximal 18 Bahnen, Bandlänge 8 mm, unterschiedliche Auftragevolumina, unterer Randabstand 8 mm, seitlicher Randabstand mindestens 15 mm, Bahnabstand mindestens 10 mm.

Chromatographie

In der Doppeltrögkammer (Kammersättigung für 30 min, Filterpapier mit 10 mL Fließmittel getränkt) mit Toluol – Ethylacetat – Methanol – Ammoniak 25% 10:10:5:0.3, Laufstrecke 70 mm vom unteren Plattenrand.

Dokumentation und Derivatisierung

Mit DigiStore unter UV 254 und 366 nm vor der Derivatisierung; nach Derivatisierung mit Jod-Dämpfen (0.05 g in 10 mL Ethanol 96%) unter Weisslicht.

Densitometrische Auswertung

TLC-Scanner 3 mit winCATS Software, Absorptionsmessung bei 210 nm, Auswertung über die Peakhöhe mit linearer Regression.

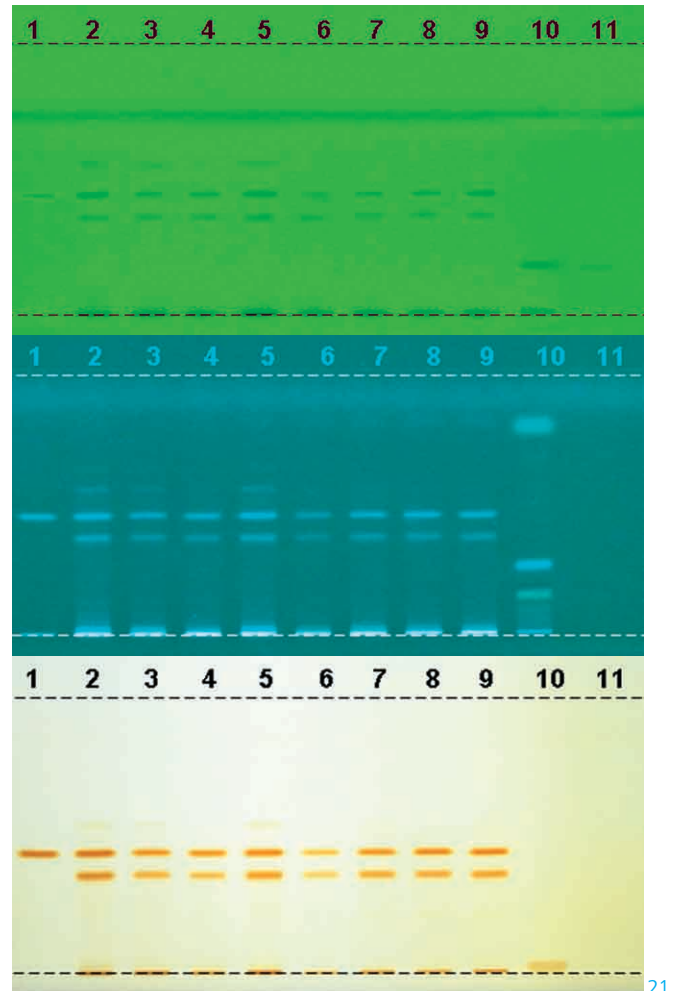
Ergebnisse und Diskussion

1. Identifizierung von *Stephania tetrandra*

Die vorgeschlagene Methode ermöglicht eine schnelle, problemlose und spezifische Identifizierung von *Stephania tetrandra* basierend auf dem Hauptalkaloid Tetrandrin ($hR_f \sim 50$). Tetrandrin ist von zwei weiteren Alkaloiden gut getrennt, die bei $hR_f \sim 60$ bzw. $hR_f \sim 35$ detektierbar sind. Das Alkaloid bei $hR_f \sim 60$ ist nur in geringen Mengen vorhanden. Die Alkaloide absorbieren UV Licht, fluoreszieren unter UV 366 nm und reagieren mit Jod zu gelblichen Zonen, die unter Weisslicht sichtbar sind.

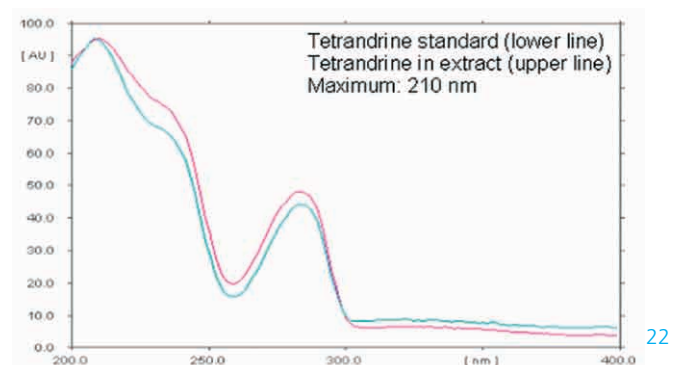
2. Quantifizierung von Tetrandrin in *Stephania tetrandra*

Das für die Identifizierung optimierte Fließmittel erreicht eine Basislinientrennung für Tetrandrin. Somit wird das gleiche chromatographische System auch für quantitative Bestimmungen eingesetzt. Eine prinzipielle Anforderung an jegliche quantitative Bestimmung ist die Spezifität, die den eindeutigen Nachweis des Analyten sicherstellt. Diese wurde durch UV-Spektrenvergleich von Probe und Standard belegt.



▲ Identifizierung von *Stephania tetrandra* Wurzel: Dokumentation unter UV 254 und 366 nm und nach Derivatisierung mit Jod-Lösung (0,5% in Ethanol) unter Weisslicht.

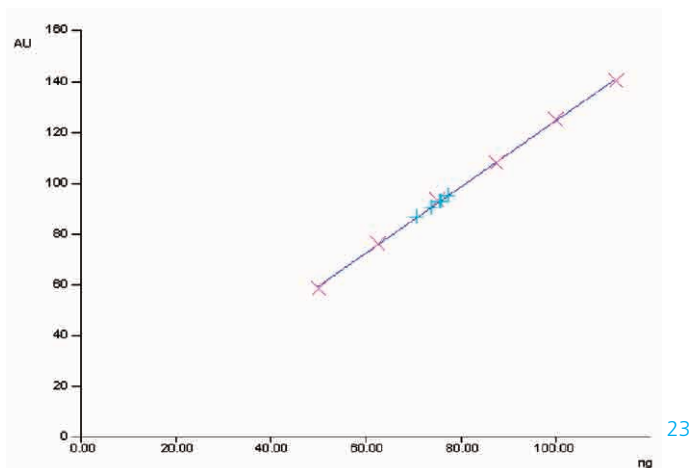
Bahn 1: Tetrandrin, Bahn 2–9: verschiedene *Stephania tetrandra* Wurzelproben, Bahn 10: *Aristolochia fangji* Wurzel (häufigste toxische Verfälschung), Bahn 11: *Aristolochiasäuren*-Mischung (toxische Leitsubstanz der Verfälschung, nur ein schwaches Band ist unter UV 254 nm bei $hR_f \sim 20$ zu sehen).



▲ Vergleich der UV-Spektren von Standard und Probe

Die lineare Regression erfolgt über 6 Standardkonzentrationen im Bereich von 50 bis 112,5 ng. Die relative Standardabweichung (RSD) beträgt 0,45% für eine sechsfache Bestimmung derselben Probe im mittleren Arbeitsbereich (75 ng). Im unteren und oberen Arbeitsbereich sind die RSD höher, i.e. 2,4% und 5,2%.

Die Präzision unter Wiederholbedingungen von einer Sechsfachbestimmung einer Probe auf einer Platte liegt zwischen 1,6% and 3,7%; die Präzision der Mittelwerte von 3 unterschiedlichen Platten (je n=6) beträgt 1,2%.

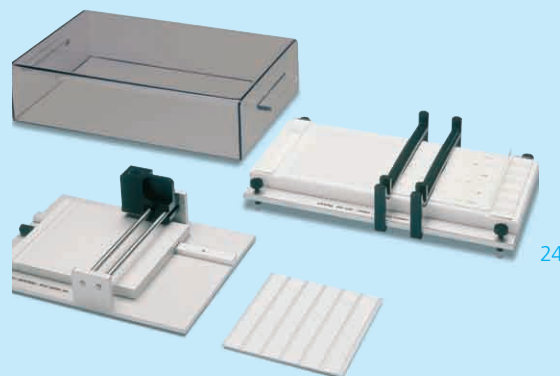


▲ Lineare Regression für Tetrandrin bei 210 nm über die Peakhöhe ($r = 0.9997$, $sdv 0.84\%$)

Literatur

Monograph Radix *Stephaniae Tetrandrae* (Fangji), Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Englische Ausgabe, Chemical Industry Press, Beijing, 2000, Vol. I.

Ein Reprint des Artikels, erschienen im Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies ist von CAMAG auf Anfrage erhältlich.



24

HPTLC-Vario System

Die HPTLC-Vario Kammer ist unübertroffen ökonomisch und vielseitig bei der Optimierung der Entwicklungsbedingungen. Sie eignet sich sehr gut zur effizienten Methodenentwicklung.

Der Vorteil der HPTLC-Vario Kammer liegt darin, dass sechs verschiedene Fließmittel auf einer 10×10 cm Platte in einem Lauf getestet werden. Sechs auf einen Streich! Der direkte Fließmittelvergleich auf sechs nebeneinander liegenden Bahnen erleichtert die Evaluation. Der geringe Lösungsmittelverbrauch (1 mL des jeweiligen Fließmittels) ist zudem von Vorteil. Im Vergleich zu einer Flachbodenkammer spart man 90% an Fließmittel.

Die Entwicklungsbedingungen in Tank- und Sandwich-Konfiguration lassen sich ebenfalls nebeneinander simulieren und sehr gut gegenüberstellen.

Ein weiterer Einsatzbereich ist der Test von sechs verschiedenen Bedingungen der Schicht-Vorkonditionierung. Zum Beispiel können bis zu sechs unterschiedlich eingestellte relative Feuchtigkeitsgehalte der Umgebungsluft nebeneinander untersucht werden.

Neues von

winCATS

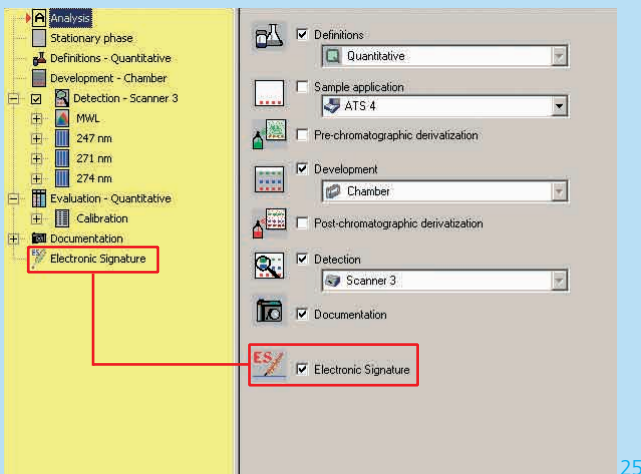
Planar Chromatography Manager

winCATS unterstützt 21 CFR Teil 11

Die CAMAG Software winCATS – Planar Chromatography Manager unterstützt ab Version 1.3.0 die Vorschrift 21 CFR Teil 11 »Elektronische Datenaufzeichnungen und Elektronische Unterschriften« der US-Lebensmittel- und Gesundheitsbehörde FDA (Food and Drug Administration). Für eine wachsende Zahl von Anwendern ist die Vorschrift 21 CFR Teil 11 verbindlich. Dazu wird die Programmoption »21 CFR Part 11 compliance ready« benötigt.

TimeStamp	Account	Reason/Remark
02/19/2004 03:18:37 PM	Supervisor	Detection: All tracks w
02/19/2004 03:18:37 PM	Supervisor	Detection: Integration
02/19/2004 03:18:31 PM	Supervisor	Integration tool started
02/19/2004 03:17:57 PM	Supervisor	Calibration: A (re)calc
02/19/2004 03:17:57 PM	Supervisor	Detection: Substance
02/19/2004 03:15:25 PM	Supervisor	Detection: Track 1: E
02/19/2004 03:15:25 PM	Supervisor	Calibration: A (re)calc
02/19/2004 03:15:25 PM	Supervisor	Detection: Substance
02/19/2004 03:15:25 PM	Supervisor	Detection: All tracks w
02/19/2004 03:15:25 PM	Supervisor	Detection: Integration
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Calibration: A (re)calc
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Detection: Automatic
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Wavelength of "Propy
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Substance window of "
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Substance "Phenaceli
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Substance window of "
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Substance "Coffein @
02/19/2004 03:15:13 PM	Supervisor	Substance window of "
02/19/2004 03:15:05 PM	Supervisor	Detection: finished OK
02/19/2004 03:15:04 PM	Supervisor	Detection: Substance
02/19/2004 03:15:04 PM	Supervisor	Detection: All tracks w
02/19/2004 03:11:00 PM	Supervisor	Detection: started
02/19/2004 03:10:50 PM	Supervisor	TLC step: "Sample ap

Audit Log: jede Änderung in einer Datei wird mit Datum, Uhrzeit und Benutzer dokumentiert.



TLC Steps: die elektronische Signatur wird aktiviert und erscheint links im aktuellen Analysenablauf

Timestamp	Account	Reason/Description
02/23/2004 11:14:02 AM	winCATS Administrator	Auto login: Supervisor
02/23/2004 11:13:58 AM	Supervisor	Logged out due to shutdown (win
02/23/2004 11:13:24 AM	Supervisor	Closed document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 11:13:24 AM	Supervisor	Saved document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 11:13:20 AM	Supervisor	Closed document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 11:13:18 AM	Supervisor	Closed document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 11:13:05 AM	Supervisor	Saved document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 11:11:36 AM	Supervisor	Saved document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 10:57:08 AM	ATS4_090119	Started by user <<Supervisor>>
02/23/2004 10:56:02 AM	Supervisor	New document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 10:42:25 AM	Supervisor	New document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 10:39:54 AM	Supervisor	Opened file [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 10:39:47 AM	winCATS	Auto login: Supervisor
02/23/2004 10:39:45 AM	Supervisor	Logged out due to shutdown (win
02/23/2004 10:39:43 AM	Supervisor	Closed document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 10:39:42 AM	Supervisor	Document [M:\PROJEKTE\
02/23/2004 10:15:36 AM	Supervisor	New document [M:\PROJEKTE\

System Log: täglich wird eine Datei generiert, welche alle Systemvorgänge festhält

Zugangskontrolle, Änderungsmanagement und Datenaufbewahrung sind zentrale Punkte dieser Vorschrift. Die winCATS Programmoption »21 CFR Part 11 compliance ready« ermöglicht:

- Datenaufnahme und -bearbeitung durch Benutzeridentifikation, mit Passwort geschützt
- Sichere Speicherung aller Resultate einschliesslich Rohdaten und damit volle Datenintegrität und Rückverfolgbarkeit
- Dokumentation aller Aktivitäten im »System/Audit Log« zur Rückverfolgbarkeit elektronischer Unterschriften.