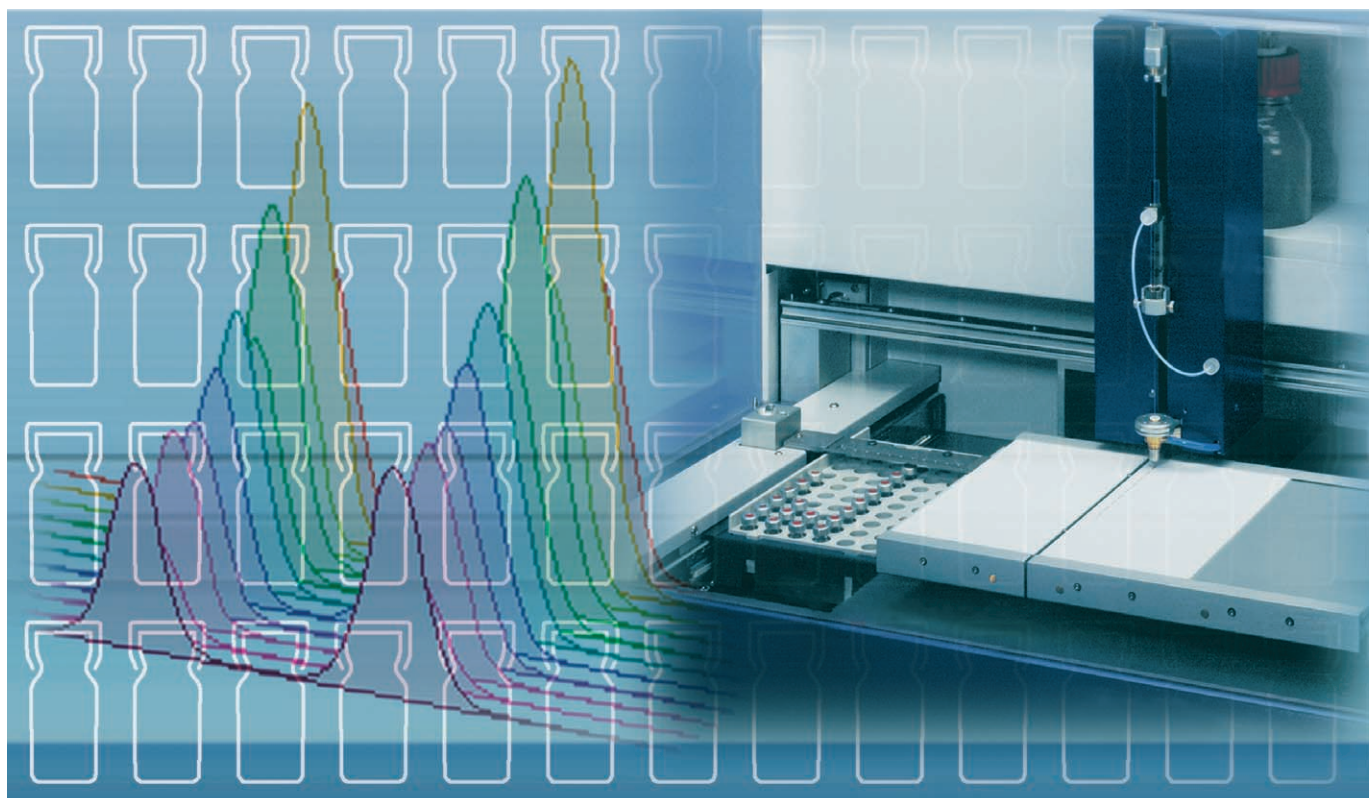


CBS

CAMAG BIBLIOGRAPHY SERVICE



**Planar-Chromatographie –
hoher Probendurchsatz und unübertroffene
Flexibilität**

CAMAG

93

Nr. 93, September 2004

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

IN DIESER AUSGABE

Verfahren, Anwendungen, Events

Bestimmung von Signalceramiden
in primären Keratinozyten..... 2–4

Reinheitsprüfung und Validierung
von Metoclopramid 5–7

Planar-chromatographischer
Austausch im Jahre 2004 9

Bestimmung von Progesteron
in Arzneimitteln mit verzögerter
Wirkstoff-Freisetzung 10–12

Erfreuliches aus China 13

Neues HPTLC-MS-Verfahren
zur Bestimmung von heterocyclischen
aromatischen Aminen..... 14–15

Standardisierung –
ein Schlüsselfaktor der modernen
Planar-Chromatographie 16

**In dieser Ausgabe hervorgehobene
CAMAG Produkte**

AMD System 3

DC-Probenautomat 4 (ATS 4) 7

TLC-Scanner 3..... 11

Rubrik: Kennen Sie CAMAG?

Neuer Leiter für
Forschung und Entwicklung..... 8

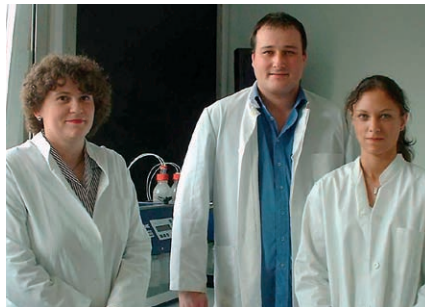


CAMAG (Schweiz)
Sonnenmattstr. 11 • CH-4132 Muttenz 1
Tel. + 41 61 467 3434 • Fax + 41 61 461 0702
info@camag.com

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

**Bestimmung von Signalceramiden
in primären Keratinozyten**



▲ Von links nach rechts:
Dr. Susanne Grether-Beck, Andreas Timmer,
Daniela Brammertz



▲ Zur raschen Analyse von grossen Messreihen werden 4 AMD2-Systeme über eine serielle Schnittstelle mittels eines PC gesteuert.

Das Institut für Umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH untersucht die Mechanismen der Entstehung von durch Umweltfaktoren (Fremdstoffe, Partikeln, UV-Strahlung) bedingten Gesundheitsschäden wie Krebserkrankungen, Allergien, Autoimmunkrankheiten, degenerative Erkrankungen oder vorzeitige Alterung.

Die Arbeitsgruppe von Dr. Grether-Beck* beschäftigt sich mit der Wirkung von physiologischen Dosen ultravioletter Strahlung auf die Hautzellen des Menschen im Hinblick auf die Induktion von Genexpression. In dem hierfür etablierten Signaltransduktionsmodell spielen Lipide und insbesondere Signalceramide eine entscheidende Rolle als sekundäre Botenstoffe. Letztere unterscheiden sich hinsichtlich ihrer chemischen Struktur und Funktion von den für Keratinozyten typischen Barriereceramiden des Stratum corneum.

Einleitung

Die Bildung von Signalceramiden mit der allgemeinen Struktur N-acyl-D-erythro-Sphingosin (acyl = C₁₂ bis C₂₄), wurde lange Zeit mittels radioaktiver in-vivo Markierung der zu untersuchenden Zellen mit [¹⁴C]- oder [³H]-markierten Fettsäuren, insbesondere Palmitinsäure (C₁₆), durchgeführt. Die Quantifizierung der isolierten und mittels Planar-Chromatographie in der konventionellen Trogkammer aufgetrennten Ceramide erfolgte dann durch Auskratzen und anschliessendes Auszählen der radioaktiven Proben, deren Position auf der DC-Platte über eine unspezifische Jodfärbung unter Zuhilfenahme eines käuflichen Standards zugeordnet wurde [3].

Aus Sicht der Arbeitssicherheit und im Hinblick auf die hohen Kosten der Unterhaltung eines Isotopenlabors (Entsorgung von radioaktiven Lösungsmitteln, Szintillationslösungen) ist die nachfolgend aufgeführte, nicht radioaktive Bestimmung der Ceramide eine kostengünstigere und sicherere Alternative. Die simultane Trennung von insgesamt 17 Standards bzw. Proben dauert 42 min bei einem Lösungsmittelverbrauch von 54 mL.

Probenvorbereitung

Die auf Eis von den Zellkulturschalen mit einem Spatel abgekratzten primären Keratinozyten werden in Phosphat-gepufferter Salzlösung durch Zentrifugation gewaschen. Auf 500 µg Protein normierte Aliquots werden einer Lipidextraktion nach Folch [1] und einer milden alkalischen Hydrolyse unterworfen [2,3,4].

Schicht

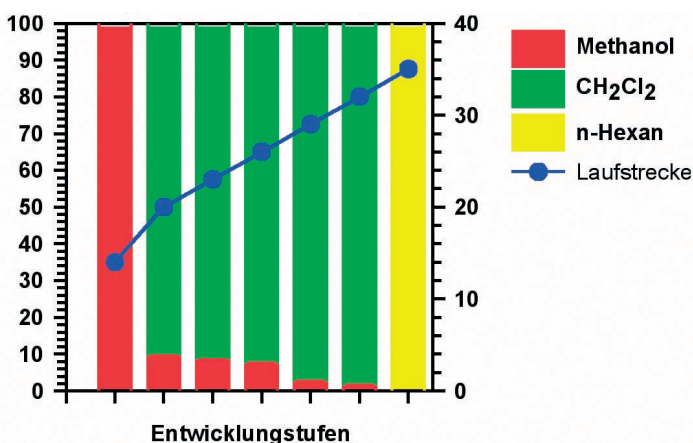
HPTLC-Platten Kieselgel 60 F_{254s} (Merck), 20 x 10 cm, in 2-Propanol vorgewaschen (durch Eintauchen für mindestens 1 h) und anschliessend 20 min bei 120 °C getrocknet.

Probenauftragung

Bandförmig mit Linomat, 17 Bahnen, Auftragevolumen für das Standardgemisch 1, 5, 10, 15, 20 µL und für die Proben 10 µl, Bandlänge 8 mm, unterer Randabstand 10 mm, seitlicher Randabstand 20 mm, Bahnabstand 10 mm.

Chromatographie

Im AMD2-System mit einem 7–Stufen Gradienten aus Methanol, Dichlormethan und n-Hexan mit N₂ als Schutzgas, max. Laufstrecke 35 mm. 54 mL Lösungsmittelverbrauch pro Gradient (3 mL pro Bestimmung). Gradientendauer insgesamt 42 min, davon je 2 min Trocknungszeit. Die Trennzeit pro Einzelbestimmung beträgt 2.5 min.



▲ AMD2-Gradient aus 7 Entwicklungsschritten von Methanol über Dichlormethan nach n-Hexan zur Trennung von Ceramiden



CAMAG AMD System

(Automatisierte Mehrfachentwicklung)

Die Arbeitsgruppe von Frau Dr. Grether-Beck setzt vier AMD2-Systeme parallel ein, um grosse Messreihen rasch bewältigen zu können. Dies bedeutet, dass die Chromatographie von bis zu 68 Bestimmungen gleichzeitig in ca. 45 min erfolgen kann.

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. Durch die Mehrfach- und Gradiententwicklung wird eine Fokussierung der Zonen erreicht und die Peakschärfe verbessert. Dies führt oft zu einer besseren Nachweisempfindlichkeit, die auch in dieser Anwendung bei der Bestimmung von Signalceramiden von Vorteil ist.

Postchromatographische Derivatisierung

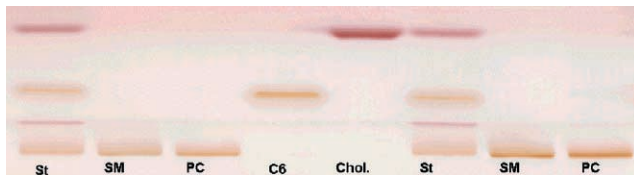
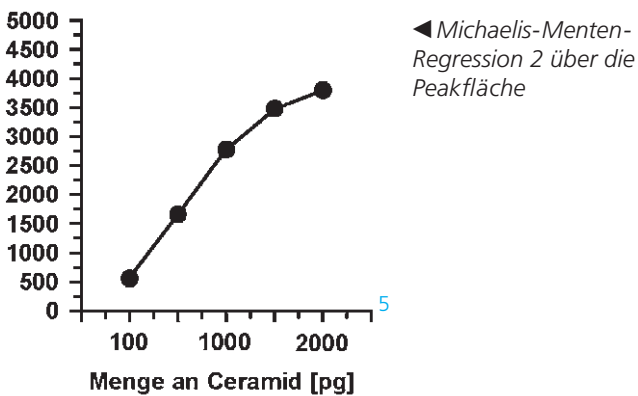
Platte mittels der CAMAG Chromatogramm-Tauchvorrichtung in das Manganchlorid-Reagenz für 1 s eintauchen und die Platte anschliessend 20 min bei 120 °C erhitzen [2]. Phospholipide, Sphingolipide und Cholesterole erscheinen als gelbe bis braunviolette Zonen auf weissem Grund.

Densitometrische Auswertung

TLC-Scanner 3 mit CATS Software, Absorptionsmessung bei 550 nm, Michaelis-Menten-Regression 2 über die Peakfläche

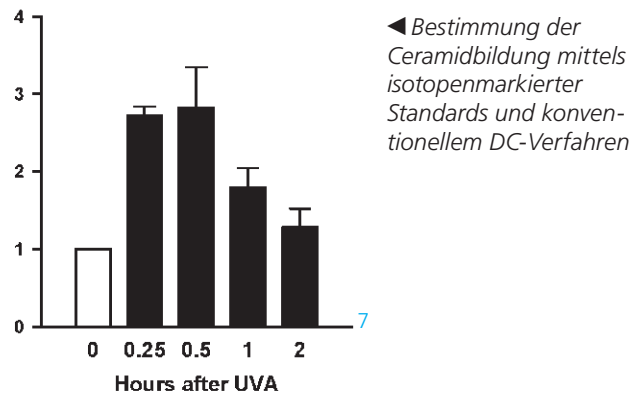
Ergebnisse und Diskussion

Die Signalceramide werden deutlich von den im Zellextrakt enthaltenen Lipiden wie Sphingomyelin, Phosphatidylcholin, Cholesterol und Cholesterolsulfat getrennt. Sie lassen sich bis in den Pikogramm-Bereich quantifizieren. Die Ergebnisse waren reproduzierbar. Die erreichte Empfindlichkeit der Ceramidbestimmung mittels HPTLC/AMD übertrifft den Nachweis der Ceramide nach in-vivo-Markierung mit [¹⁴C]- oder [³H]-markierter Palmitinsäure und konventionellem DC-Verfahren.

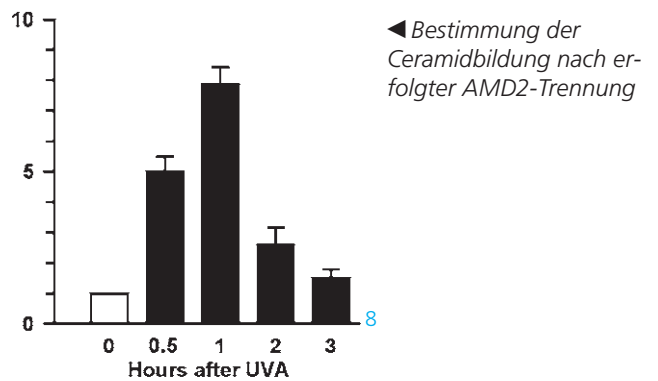


▲ Ausschnitt des Auflicht-Chromatogramms (Weisslicht) der mit Manganchlorid-Reagenz derivatisierten HPTLC-Platte, Bahnbelegung: Standardgemisch (St) bestehend aus den Einzelkomponenten Sphingomyelin (SM), Phosphatidylcholin (PC), C6-Ceramid (C6) und Cholesterol (Chol)

Nachfolgende Abbildung zeigt die Bildung von Ceramiden in primären Keratinozyten nach in-vivo-Markierung mit [³H]-Palmitinsäure und konventionellem DC-Verfahren. Die Daten wurden als Counts per Minute basierend auf einer Probe von 500 µg Protein erfasst. Der Ceramidgehalt der unbestrahlten Kontrollzellen wurde auf 1 gesetzt. Die Ceramidbildung wird als n-fache Induktion wiedergegeben [2].



In nachfolgender Abbildung erfolgte die Trennung der Lipide im AMD2-System basierend auf einer Probe von 500 µg Protein.



[1] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957), J Biol Chem 226: 497–509

[2] Grether-Beck S, Bonizzi G, Felsner I, Timmer A, Schmitt H, Sies H, Piette J, Krutmann J (2000) EMBO J 19: 5793–5800

[3] Grether-Beck S, Felsner I, Brenden H, Krutmann J (2003) J Biol Chem 278: 47498–47507

[4] Schieke S, von Montfort C, Buchczyk DP, Timmer A, Grether-Beck S, Krutmann J, Holbrook NJ, Klotz L-O (2004) Free Radic Res 38: 729–737

*A. Timmer, D. Brammertz, Dr. S. Grether-Beck, Institut für Umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, D-40225 Düsseldorf, Grether-Beck@uni-duesseldorf.de, Andreas.Timmer@ish.de, Tel. 0211-3389303

Von der visuellen Bewertung nach Arzneibuch zum exakten analytischen Ergebnis



▲ Arbeitsgruppe Analytische Entwicklung der STADA R&D GmbH: Vordere Reihe, von links: Silke Nannen, Claudia Appel, Jana Kulle, Kerstin Armbrust, Brunhilde Zlattinger. Hintere Reihe, von links: Herbert Hofmann, Mike Kottbus, Dirk Willerscheid, Stefanie Rumpel.

Die Arbeitsgruppe Analytische Entwicklung der Firma STADA R&D GmbH in Bad Vilbel* befasst sich u.a. mit der Optimierung von Untersuchungsvorschriften bis hin zur Validierung der Vorschriften für Wirkstoffgehalte und Verunreinigungen. In speziellen Fällen erfolgt auch die Erstellung von Analysenvorschriften für Wirkstofffreisetzungen. Weitere Schwerpunkte der Arbeitsgruppe sind Stabilitätsuntersuchungen von Fertigarzneimitteln und die Analyse von Rohstoffen.



▲ Kerstin Armbrust am HPTLC-Arbeitsplatz bei der Quantifizierung von N,N-diethylethan-1,2-diamin in Metoclopramid-Fertigarzneimitteln

Einleitung

Der Wirkstoff Metoclopramidhydrochlorid wird von der Firma STADA R&D GmbH in flüssigen und festen Arzneimittelformulierungen eingesetzt. Entsprechend der Arzneibuchmonographie Ph. Eur. 4, 2002 erfolgt die Reinheitsprüfung auf die Verunreinigung N,N-Diethylethan-1,2-diamin mittels konventioneller Dünnschicht-Chromatographie mit visueller Auswertung nach postchromatographischer Derivatisierung. Die auf dieser Monographie basierende Arzneibuch-Methode wurde zur exakten quantitativen Bestimmung von N,N-Diethylethan-1,2-diamin in Metoclopramid-Fertigarzneimitteln mittels quantitativer Planar-Chromatographie weiterentwickelt und validiert.

Ziel der Untersuchungen war die Optimierung der chromatographischen Bedingungen und die Objektivierung der visuellen Auswertung der Verunreinigung durch ein exaktes quantitatives Verfahren für metoclopramidhaltige Lösungen und Tabletten. Hier dargestellt sind die Ergebnisse für Lösungen.

Die Planar-Chromatographie (DC/HPTLC) ist in praktisch allen Arzneibüchern der Welt zur Reinheitsprüfung von Wirkstoffen etabliert. Das folgende Verfahren ist ein Beispiel für die präzise Bestimmung von solchen Verunreinigungen (related substances), die keine (ausreichende) UV-Aktivität aufweisen und daher derivatisiert werden müssen.

Probenvorbereitung

Die wässrige Probelösung wird vor dem Auftragen auf die HPTLC-Platte durch ein Membranfilter (PTFE, 0,45 µm) filtriert. Sie enthält neben dem Wirkstoff Metoclopramid die Konservierungsstoffe Methyl- und Propylhydroxybenzoat.

Standardlösungen

40 mg N,N-Diethylethan-1,2-diamin werden mit Wasser zu 200 mL aufgefüllt. 2 mL dieser Stammlösung werden jeweils zu 100, 20 und 10 mL mit Wasser verdünnt. Die Standardlösungen entsprechen 0.1%, 0.5% und 1% N,N-Diethylethan-1,2-diamin, bezogen auf die Konzentration Metoclopramid in der Untersuchungslösung.

Schicht

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

Probenauftragung

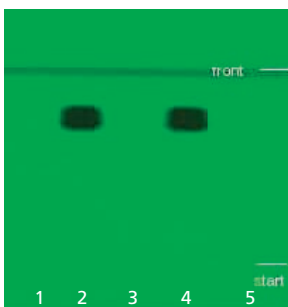
Bandförmig mit dem CAMAG DC-Probenautomat 4, 18 Bahnen nach der Data-pair-Technik, Bandlänge 5 mm, Bahnabstand 8,5 mm, seitlicher Randabstand 15 mm, unterer Randabstand 10 mm. Auftragevolumen 2500 nL. Nach dem Auftragen wird die Platte 10 min bei Raumtemperatur getrocknet.

Chromatographie

In der CAMAG Doppeltröglammer mit konzentrierter Ammoniaklösung (32% w/w) – Methanol – Dichlormethan 3:15:80 mit Kammerfüllung, Laufstrecke 4 cm vom unteren Plattenrand. Nach der Chromatographie die Platte 5 min mit Warmluft trocknen.

Postchromatographische Derivatisierung

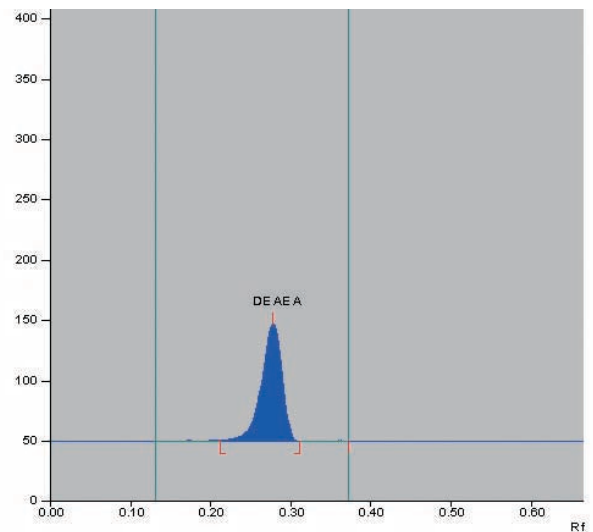
Mit der CAMAG Chromatogramm-Tauchvorrichtung die Platte in 0,2% ethanolische Ninhydrin-Lösung tauchen (Verweilzeit 1 s) und anschliessend 5 min im Trockenschrank bei 120 °C erhitzen. N,N-Diethylethan-1,2-diamin erscheint bei einem R_f -Wert von 28 als braunrote Zone auf fleischfarbenem Untergrund. Die Konservierungsmittel werden nicht umgesetzt und erscheinen folglich nicht im Chromatogramm.



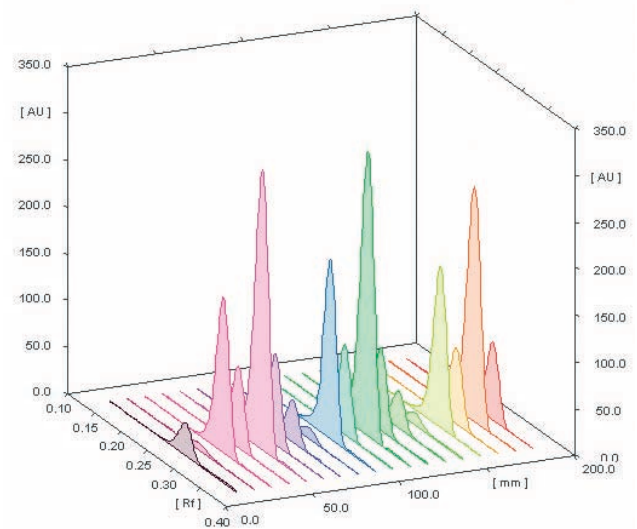
▲ Aufnahme mit dem CAMAG Bilddokumentationssystem VideoStore bei 254 nm vor und bei Tageslicht nach der Derivatisierung; Bahn 1, 3, 5 Standardlösung 0,1%, 0,5% und 1%, Bahn 2, 4 Probelösungen.

Densitometrische Auswertung

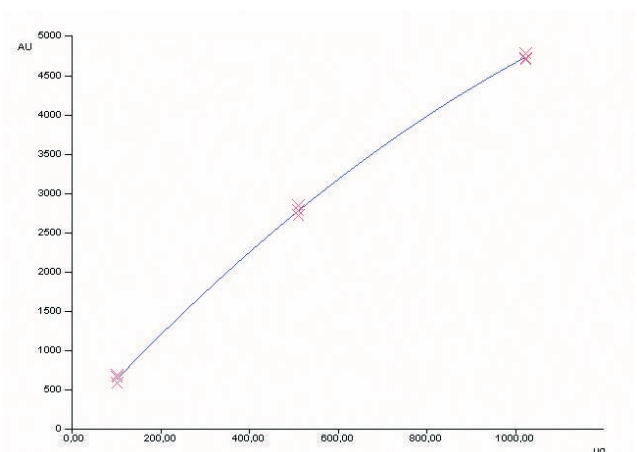
Quantitative Auswertung mit dem CAMAG TLC-Scanner 3 mit winCATS Software, Absorptionsmessung mit der Halogen-Wolframlampe bei 480 nm. Auswertung über die Peakflächen mittels polynomer Regression



▲ Probelösung Metoclopramid dotiert mit 0,2% N,N-Diethylethan-1,2-diamin (Peak DEAEA)



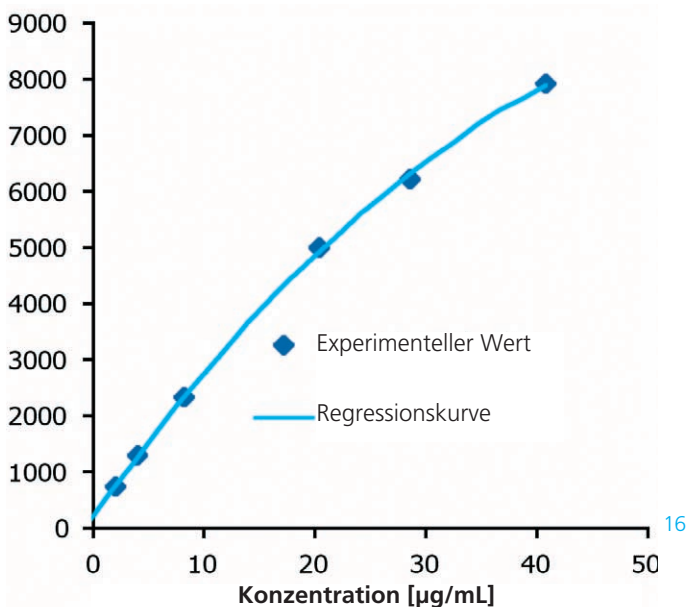
▲ 3D-Darstellung der 18 Bahnen



▲ Polynome Kalibrierfunktion über drei Standardniveaus ($r = 0,99969$, $sdv = 1,88\%$): die Menge der Verunreinigung war kleiner als der niedrigste Kalibrierpunkt ($< 0,1\%$)

Ergebnisse und Diskussion

Durch den Übergang von der (konventionellen) DC- auf die HPTLC-Schicht und die Optimierung des Fließmittelgemisches entstand ein Verfahren zur exakten Quantifizierung der Nebenkomponente N,N-Diethylethan-1,2-diamin. Das Verfahren ist validiert. Die Wiederholpräzision beträgt 1.65%. Die Wiederfindungsrate liegt bei 100.5% im Bereich von 0.2% bis 1% Verunreinigung. Die polynome Kalibrierfunktion hat einen Korrelationskoeffizienten von 0.9995 und eine Reststandardabweichung von 2.19%. Die Bestimmungsgrenze der Verunreinigung liegt bei 0.05% N,N-Diethylethan-1,2-diamin bezogen auf die Konzentration Metoclopramid.



▲ Validierung: Polynome Kalibrierfunktion von N,N-Diethylethan-1,2-diamin über die Peakfläche mit einem Korrelationskoeffizienten von 0.9995 und einer Reststandardabweichung von 2.19%.

Weitere Informationen und Hinweise – auch zu festen Arzneiformen – sind von den Autoren auf Anfrage erhältlich.

*Herbert Hofmann, STADA R&D GmbH, Analytische Entwicklung, Sladastrasse 2, D-61118 Bad Vilbel, Tel. 06101-603-0, herbert.hofmann@stada.de



CAMAG DC-Probenautomat 4 (ATS 4)

In diversen Beiträgen dieser CBS-Ausgabe wird der ATS 4 zum vollautomatischen Auftragen von Substanzen auf die HPTLC-Platte eingesetzt (siehe auch Seite 10 und 15). Proben können in Form schmaler Striche aufgesprüht oder punktförmig durch Kontaktauftragung sowie für grössere Volumina in Rechteckform aufgetragen werden.

Der ATS 4 trägt Substanzen vor Umwelteinflüssen geschützt mit höchstmöglichem Bedienkomfort auf, gesteuert durch winCATS. Bei unterschiedlich dicken Objekten justiert sich die Objektaufgabe selbst. Die Sprühdüse muss nicht nachjustiert werden. Neben dem Standardrack kann auch ein Spezialrack für Titerplatten eingesetzt werden. Das automatisierte Probenauftragen ermöglicht Präzision und Robustheit im Routinebetrieb mit GLP/GMP-Konformität.

Den ATS4 gibt es auch als Option mit beheizbarer Sprühdüse, z. B. für den Einsatz in der Spurenanalytik. Hier müssen meist grössere Volumina aufgetragen werden, um die Nachweisempfindlichkeit zu erreichen. Bei wässrigen Extrakten beschleunigt die beheizbare Sprühdüse (max. 60 °C) das Auftragen grösserer Volumina.

Neuer Leiter für Forschung und Entwicklung



18

▲ Dr. Matthias Loppacher

Wir berichteten in CBS 91, dass Herr Peter Jänchen nach zehn Jahren als Leiter des Bereichs Forschung und Entwicklung, Anfang 2003 zum Vorsitzenden der Geschäftsleitung (CEO) aufstieg. Seine Nachfolge als Leiter Forschung und Entwicklung übernahm im Juni 2003 Dr. Matthias Loppacher.



19

▲ Mitglieder des CAMAG Entwicklungsteams (von links): Christoph Fankhauser, Hans-Ruedi Brugger, Klaus Schetter, Dr. Matthias Loppacher, Beatrice Kaeser, Andreas Durandi und Walter Reichenback

Dr. Loppacher studierte Physik an der Universität Basel und promovierte im Rahmen eines internationalen Projektes über den Aufbau eines Gerätes für die Messung der Elektronenpolarisation (Møller Polarimetrie) in Virginia, USA. Nach einer kurzen Zeit als Postdoc an einem Kernforschungsinstitut in Newport News in Virginia, USA, im Auftrag der Universität Basel wagte er den Schritt in die Industrie. Als Produktmanager in einem international ausgerichteten Unternehmen optimierte er den Know-how-Transfer zwischen Vertrieb und Entwicklung, vertrat die Firma in Normengremien für Hochspannungsmess- und -prüftechnik, nahm wissenschaftliche Aktivitäten wahr und leitete erfolgreich Entwicklungsprojekte. Erfahrungen im Bereich Strategie und Zukunftsorientierung sammelte er beim Aufbau eines Technologie-management-Konzeptes für ein Unternehmen mit 600 Personen in Zusammenarbeit mit dem Betriebswirtschaftlichen Institut der ETH Zürich. Patentrechtliches Wissen eignete er sich zwischenzeitlich in einem Patentanwaltsbüro an.

Diese Vorkenntnisse will nun CAMAG nutzen. Seine Stärken sehen wir insbesondere in interdisziplinären Projekten, bei welchen die verschiedensten Anforderungen aus Mechanik, Elektronik, Software und Chemie den Schlüssel zum Erfolg darstellen. Das geforderte breite Fachwissen bringt Dr. Loppacher mit. Er hat sich zum Ziel gesetzt, die Zukunftsorientierung unserer Firma erfolgreich mitzugestalten. Erfahrene Mitarbeiter aus den Abteilungen Mechanik, Elektronik und Labor unterstützen ihn als Team, um auch in Zukunft den Marktbedürfnissen in der Planar-Chromatographie mit neuen Ideen und Entwicklungen gerecht zu werden.

**CAMAG LITERATURDIENST
CAMAG BIBLIOGRAPHY SERVICE
PLANAR CHROMATOGRAPHY**

CBS

Liebe Freunde

In China weht ein frischer Wind für die Planar-Chromatographie. Ein mobiles Drogen-Überwachungs-Programm wurde von den Behörden ins Leben gerufen, um damit den sicheren Gebrauch von Arzneimitteln auch in ländlichen Gebieten zu fördern und die Einhaltung der gesetzlichen Bestimmungen zu sichern (S. 13). In dieses Programm ist die Planar-Chromatographie als fester Bestandteil integriert. Sie wird als schnelle Methode vor Ort in 344 mobilen Überwachungs-labors eingesetzt.

In der letzten CBS-Ausgabe wurde unter anderem die Firma Altana Pharma AG vorgestellt. Auch in einem anderen bedeutenden Pharma-Unternehmen, der Firma Stada R&D GmbH, wird die Planar-Chromatographie als schnelle und spezifische Methode eingesetzt (S. 5–7). Die von dem Stada-Team aktualisierte, vorgestellte Methode zeigt den dringlich notwendigen Zeitewandel weg von antiken DC-Methoden hin zur modernen Planar-Chromatographie.

Vier AMD-Kammern werden parallel in der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Grether-Beck, Institut für Umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, zur Lipid-analytik eingesetzt (S. 2–4).

Die simultane Trennung von 15 Doppelbestimmungen innerhalb von nur 15 min besticht bei der Anwendung von Dr. Jamshidi, Iran Polymer and Petrochemical Institute, Teheran (S. 10–12). Sie haben es bereits gemerkt, es geht um hohen Probendurchsatz als Themenschwerpunkt in dieser CBS-Ausgabe.

In diesem Jahr fand ein reger planar-chromatographischer Meinungsaustausch statt. Einige europäische Events finden Sie auf Seite 9 – sind Sie im nächsten Jahr dabei?

Herzlichst Ihre

Gerda Morlock

Gerda Morlock

Dear friends

A fresh wind for TLC is blowing in China. A "Mobile Drug Testing Program" was created by the authorities to ensure safe use of drugs also in rural areas of the country and to enforce the corresponding law (p. 13). Planar chromatography is integral part of this program. The technique will be employed on site by 344 mobile laboratories.



In the last CBS issue we featured Altana Pharma AG. Also another important pharmaceutical company, Stada R&D GmbH, utilizes planar chromatography as a rapid and specific method (p. 5–7). The updated method presented by the Stada team illustrates the necessity of changing from antique TLC to modern Planar Chromatography.

Four AMD chambers are used in parallel for analysis of lipids by the team of Dr. Grether-Beck of the Institute of Environmental-Health Research at Heinrich Heine University Düsseldorf.

Simultaneous determination of 15 samples in duplicate within only 15 min stands out in the application by Dr. Jamshidi, Iran Polymer and Petrochemical Institute, Teheran (p.10–12). You have already noticed, the thematic focus of this CBS issue is high sample throughput.

This year a broad exchange on Planar Chromatography took place. Some of the European events are mentioned on page 9. Will you participate next year?

Sincerely yours,

Gerda Morlock

Gerda Morlock

CAMAG

**SEPTEMBER
2004**

93

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

2. Fundamentals, theory and general

- 93 001 D. JÄNCHEN* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland, dieter.jaenchen@camag.com): Quantitative TLC/HPTLC in the bulk drug industry. *CBS* **81**, 10-12 (1998). A number of applications of HPTLC in the bulk drug industry are presented: process optimization, fermentation process monitoring, impurity profile, vessel residue certification and bulk drug analysis. The technique is advantageous when a large number of similar samples are to be analyzed and time and cost considerations are of importance.

Pharmaceutical research, quantitative analysis, bulk drug 2a, 32a

- 93 031 B. RENGER et al., see section 11c

- 93 003 M. SAJEWICZ, A. PIENIAK, R. PIETKA, K. KACZMARSKI, T. KOWALSKA* (*Inst. Chem., Silesian Univ., 9, Szkolna Street, 40-006 Katowice, Poland): Densitometric acquisition of concentration profiles in planar chromatography and its possible shortcomings, Part 1: 4-Phenylbutyric acid as analyte. *Acta Chromatographica* **14**, 5-15 (2004). Investigation of lateral interactions of 4-phenylbutyric acid in mild planar chromatographic systems comprising low-activity stationary phases, such as microcrystalline cellulose or chromatography paper, and low-polarity decalin as mobile phase. Acquisition of densitograms of the bands of interest was carried out in order to judge the presence or absence of lateral interactions of the analyte in the chromatographic system by comparison of the shape of the concentration profile. Discussion of the observation that the concentration profile of 4-phenylbutyric acid on cellulose powder could be easily measured on a freshly developed chromatogram only after drying whereas on chromatography paper developed at room temperature it was hardly detectable, and became fully shaped only two days later. Presentation of a tentative explanation on this phenomenon.

Traditional medicine, densitometric acquisition, 4-phenylbutyric acid 2a, 11a

- 93 007 U. WIPPO et al., see section 3d

- 93 002 A. PIENIAK, K. KACZMARSKI, M. SAJEWICZ, W. ZAPALA, A. GOLEBIOWSKA, R. TOMOLA, T. KOWALSKA* (*Inst. Chem., Silesian Univ., 9, Szkolna Street, 40-006 Katowice, Poland): A densitometric study of co-elution in thin-layer chromatography, and its physicochemical modeling. *Acta Chromatographica* **14**, 16-36 (2004). Study on co-elution by using two binary mixtures which can form mixed associative structures by hydrogen bonding: 1) a carboxylic acid (2-phenylbutyric acid) and a ketone (benzophenone), and 2) an aliphatic alcohol (5-phenylpentanol, and the same ketone (benzophenone). By using mild chromatographic conditions and working in the non-linear region of the adsorption isotherm, the co-elution of the two analytes from each pair in the form of a single chromatographic band was demonstrated, three different physicochemical explanations of their densitometrically measured concentration profiles were suggested, and semi-quantitative simulations of these profiles were performed. Discussion and comparison of the experimental results obtained by planar chromatography and HPLC using fully analogous working conditions.

Co-elution, binary mixtures 2c

3. General techniques

- 93 005 H. HAUCK*, M. SCHULZ, C. LORENZ, A. KOCH (*Merck KGaA, A&R/R&D Synthesis and Derivatization, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt, Germany, Heinz-

Emil.Hauck@merck.de): Does the use of spherical adsorbents for HPTLC pay off? CBS **92**, 5-7 (2004). Comparison of irregular HPTLC and spherical lichrospher phases relating to development time, retention, selectivity, separation power, and sensitivity of detection.

Quantitative analysis, spherical adsorbent

3b

- 93 007 U. WIPPO* (*Federal Institute for Drugs and Medical Devices, Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3, D-53175 Bonn, Germany, wippo@bfarm.de): Conversion of a gradient from an AMD1 to an AMD2 system. CBS **92**, 10-12 (2004). Conversion of AMD1 gradients into AMD2 gradients with a mathematical system using Excel 97.

AMD, mathematical system, conversion of gradients

3d, 2a

- 93 004 R. BARTZATT* (*Medicinal Chem. Lab., Dept. of Chem., Durham Sci. Center, College of Arts and Sci., Univ. of Nebraska, 6001 Dodge Street, Omaha, NE 68182 USA; bartzatt@mail.uno.maha.edu): Dansylation of aromatic, aliphatic, and medicinal carboxylic acid compounds in 1 M Na₂CO₃ buffer. Anal. Chim. Acta **488**, 203-209 (2003). Dansylation of aromatic carboxyl compounds (i.e. aspirin), aromatic primary amines, and aliphatic carboxyl compounds in 1 M Na₂CO₃ buffer at pH 11. TLC on silica gel of fluorescent labeled analytes using methylene chloride, ethyl acetate, acetone, or desired mixture of the solvents. Methylene chloride was superior to ethyl acetate or acetone. Fluorescent analytes were observed under UV lamp. Limits of detection for dansylated carboxyl compounds was 1-5 µg.

Carboxylic acid, dansyl chloride, prechromatographic derivatization, fluorescence detection

3e, 11a, 17a

- 93 006 W. KREISS,* G. EBERZ, C. WEISEMANN (*Central Research/Structural Research, Bayer AG, D-51368 Leverkusen, Germany): Bioluminescence detection for planar chromatography. CBS **88**, 12-13 (2002). TLC of waste water samples or spinach extract on silica gel. Selective detection of bioactive compounds by dipping in suspension of luminescent microorganisms (*Vibrio fischeri*). Visual detection of substance zones by reduced luminescence.

Herbal, food analysis, environmental, toxicology, qualitative identification, bioluminescence

3e, 29, 37a

4. Special techniques

- 93 008 D. JÄNCHEN* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland, dieter.jaenchen@camag.com): CAMAG DuoChrom, interface between HPLC and Planar Chromatography. CBS **83**, 2-3 (1999). HPLC of carotenoids on a RP-30 column with a gradient of 90 min from methanol - MTBE - water 80:15:2 to methanol - MTBE - water 4:45:1. HPTLC-AMD on silica gel with a 30-step gradient from methanol containing ammonia via dichloromethane to n-pentane.

AMD, comparison of methods, HPLC, DuoChrom, carotenoids, online coupling of HPLC with HPTLC

4d, 15a, 30b

- 93 018 K. K. ATINDEHOU et al., see section 8a

- 93 091 S. CAI et al., see section 32c

- 93 101 L. DONG et al, see section 32c

- 93 108 N. HUANG (Huang Nojia) et al., see section 32c

- 93 119 X. LIU (Liu Xin) et al., see section 32c
- 93 120 H LU (Lu Hua) et al., see section 32c
- 93 134 A. SIEVERS et al., see section 32e
- 93 138 H. TIAN (Tian Hong) et al., see section 32c
- 93 143 Y. WANG (Wang Yuan) et al., see section 32c
- 93 055 W. XIA (Xia Wei) et al., see section 15a
- 93 147 Y. XIA (Xia Yufeng) et al., see section 32c
- 93 150 ZH. XIE (Xie Zhimin) et al., see section 32c
- 93 152 L. XU (Xu Liting) et al., see section 32c
- 93 153 R. XU (Xu Renliu) et al., see section 32c
- 93 154 A. YANG (Yang Andong) et al., see section 32c
- 93 058 Y. YANG (Yang Yun) et al., see section 17a
- 93 158 X. YANG (Yang Xixong) et al., see section 32c
- 93 075 X. ZHANG (Zhang Xuelan) et al., see section 22
- 93 164 Y. ZHENG (Zheng Yi) et al., see section 32c

5. Hydrocarbons and halogen derivatives

- 93 010 D. JÄNCHEN* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland, dieter.jaenchen@camag.com): Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. CBS **83**, 6-7 (1999). HPTLC-AMD of PAHs in liver and lung of animals exposed to contaminated soil on RP-18 with a 14-step gradient from acetonitrile to methanol - water 9:1. Quantification by fluorescence measurement at 313/>400 nm and 254/>400 nm, respectively. Strict linearity ($r^2 > 0.99$ on 5 measuring points) was proven. Coefficient of variation was found to be < 5 %, and recoveries between 55 and 70 % were given. Limits of detection was determined to be 0.2 to 2 ng/g sample.
- Environmental, agricultural, AMD, quantitative analysis 5b, 37d
- 93 009 D. JÄNCHEN* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland, dieter.jae

nchen@camag.com): Detection and quantitation of additives in mineral oil. CBS **81**, 6-7 (1998). HPTLC-AMD on silica gel with a gradient based on methanol – dichloromethane – n-hexane. Quantification by densitometry with absorbance measurement at 220 nm and fluorescence measurement at 366/>400 nm.

Quantitative analysis, postchromatographic derivatization, AMD, lubricants 5d, 35c

8. Substances containing heterocyclic oxygen

- 93 018 K. K. ATINDEHOU, E. F. QUEIROZ, C. TERREAUX, D. TRAORE, K. HOSTETTMANN* (*Institute of Pharmacognosy and Phytochemistry, CH-1015 Lausanne, Switzerland): Three new prenylated isoflavonoids from the root bark of *Erythrina vogelii*. *Planta med.* **68**, 181-182 (2002). TLC of 1-methoxyphaseollidin, isowighteone, and vogelin A, B, C on silica gel. Detection under UV light at 254 nm and with vanillin-sulfuric acid reagent. Detection of 1-methoxyphaseollidin and isowighteone by a direct TLC bioautographic assay with LB (Luria-Bertani) medium.
Pharmaceutical research, qualitative identification,
Erythrina vogelii, isoflavonoids 8a, 4e
- 93 013 G. BOJASE, R. R. T. MAJINDA*, B. A. GASHE, C. C. W. WANJALA (*Department of Chemistry, University of Botswana, Private Bag 00704, Gaborone, Botswana): Antimicrobial flavonoids from *Bolusanthus speciosus*. *Planta med.* **68**, 615-620 (2002). Preparative TLC of 5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy-5'-prenylisoflavone, 5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy-6,5'-d iprenylisoflavone, 5,7,2',4'-tetrahydroxy-8,3'-diprenylisoflavone, bolusanthin II, bolucarpan A, B, C, D on silica gel with n-hexane - acetone 3:1 by 4-fold development. Testing for antimicrobial activity was done by TLC bioautographic technique using the standard procedures by Rahalison et al. against 5 microorganisms.
Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC,
bolusanthus speciosus, flavonoids 8a
- 93 019 W.-L. LO, F.-R. CHANG, C.-C. LIAW, Y.-C. WU* (*Graduate Institute of Natural Products, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung 807, Taiwan, Republic of China): Cytotoxic coumaronochromones from the roots of *Euchresta formosana*. *Planta med.* **68**, 146-151 (2002). Analytical and preparative TLC of trifolirhizin, quercetin, euchretin K, L, M, and N on silica gel using i. a. chloroform - methanol - 29 % ammonia 100:10:1, n-hexane - chloroform 20:1 and 30:1, chloroform ≠methanol 10:1, 20:1 and 30:1 as well as n-hexane - acetone 4:1, 7:1, 10:1 and 60:1. Detection by spraying with Dragendorff's reagent or 50 % sulfuric acid followed by heating on a plate heater.
Pharmaceutical research, preparative TLC qualitative identification,
Euchresta formosana, coumaronochromones 8a
- 93 020 N. P. D. NANAYAKKARA*, C. L. BURANDT JR., M. R. JACOB (*National Center for Natural Products Research, School of Pharmacy, The University of Mississippi, University, MS 38677, USA): Flavonoids with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from *Dalea scandens* var. *paucifolia*. *Planta med.* **68**, 519-522 (2002). Preparative TLC of 5²-(1^{'''},1^{'''}-dimethylallyl)-8-(3^{''},3^{''}-dimethylallyl)-2',4',5,7-tetrahydroxyflavone and 2(S)-5²-(1^{'''},1^{'''}-dimethylallyl)-8-(3^{''},3^{''}-dimethylallyl)-2'-methoxy-4',5,7-trihydroxyflavone on silica gel with dichloromethane - methanol 49:1 and n-hexane - ethyl acetate 1:1.
Pharmaceutical research, preparative TLC, qualitative identification,
Dalea scandens var. *paucifolia*, flavonoids 8a
- 93 063 C. C. W. WANJALA et al., see section 22

- 93 011 A. A. AHMED*, A. E.-H. H. MOHAMED, O. TZAKOU, A. GANI, A. YANNITSAROS, M. A. EL-MAGHRABY, M. E. HASSAN, K.-P. ZELLER (*Department of Chemistry, Faculty of Science, El-Minia University, El-Minia 61519, Egypt): Three pyrone glucoside derivatives from *Conyza albida*. *Planta med.* **68**, 664-666 (2002). TLC of Z-lachnophyllum ester, E-lachnophyllum lactone, and Z-cumulene on silica gel with diethyl ether - petroleum ether 5:1.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification,
Conyza albida, pyrone glucoside derivatives 8b
- 93 012 S. APERS*, K. CIMANGA, D. VANDEN BERGHE, E. VAN MEENEN, A. O. LONGANGA, A. FORIERS, A. VLIETINCK, L. PIETERS (*Department of Pharmaceutical Sciences, University of Antwerp, Universiteitsplein 1, 2610 Antwerp, Belgium): Antiviral activity of simalikalactone D, a quassinoid from *Quassia africana*. *Planta med.* **68**, 20-24 (2002). Analytical and preparative TLC of quassinoids (quassin and simalikalactone) on silica gel with diethylether - methanol 9:1. Detection under UV light at 254 and 366 nm and after spraying subsequently with 5 % phosphomolybdic acid and 60 % sulfuric acid in methanol, followed by heating at 120 °C for 10 min.
Pharmaceutical research, qualitative identification,
simalikalactone D, *Quassia africana* 8b
- 93 084 M. BEAUFOUR et al., see section 29f
- 93 014 C. CABALLERO-GEORGE, P. M. L. VANDERHEYDEN, T. DE BRUYNE, A.-A. SHAHAT, H. VAN DEN HEUVEL, P. N. SOLIS, M. P. GUPHA, M. CLAEYS, L. PIETERS, G. VAN-QUELIN, A. J. VLIETINCK* (*Department of Pharmaceutical Sciences, University of Antwerp (UIA), Universiteitsplein 1, 2610, Antwerpen, Belgium): In vitro inhibition of [3H]-angiotensin II binding on the human AT1 receptor by proanthocyanidins from *Guazuma ulmifolia* bark. *Planta med.* **68**, 1066-1071 (2002). TLC of (-)-epicatechin, (+)-catechin, procyanidin-B2, and procyanidin-C1 on silica gel with ethyl acetate - acetic acid - formic acid - water 75:2:3:20. Detection by UV light at 254 and 366 nm and by spraying with vanillin-sulfuric acid reagent (1 % vanillin in methanol and 5 % sulfuric acid in ethanol).
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification,
Guazuma ulmifolia bark 8b
- 93 015 M. I. CHOUDHARY*, AZIZUDDIN, A. KHALID, S. Z. SULTANI, ATTA-UR-RAHMAN (*International Center for Chemical Sciences, H. E. J. Research Institute of Chemistry, University of Karachi, Karachi 752760, Pakistan): A new coumarin from *Murraya paniculata*. *Planta med.* **68**, 81-83 (2002). Preparative TLC of 2'-O-ethylmurrangatin and 2'-O-ethylmurrangatin acetate on silica gel with chloroform - methanol 19:1. Detection under UV light at 254 nm.
Pharmaceutical research, qualitative identification, preparative TLC 8b
- 93 016 J.-R. IOSET, G. E. RAOELISON, K. HOSTETTMANN* (*Institute de Pharmacognosie et Phytochimie, B. E. P., CH-1015 Lausanne, Switzerland): An LC/DAD-UV/MS method for the rapid detection of aristolochic acid in plant preparations. *Planta med.* **68**, 856-858 (2002). TLC of aristolochic acid on silica gel with chloroform - methanol - acetic acid 13:4:1 before submitting to a second migration on RP-18 with methanol - water 7:13. Detection by spraying with diphenylamine reagent (0.5 % diphenylamine in 60 % sulfuric acid) followed by heating for 10 min at 100 °C. Detection limit 1 µg in visible light and 0.2 µg under UV light at 366 nm.
Quality control, qualitative identification, aristolochic acid 8b, 11a
- 93 017 C. ITO, M. ITOIGAWA*, N. KOJIMA, H. T.-W. TAN, J. TAKAYASU, H. TOKUDA, H. NISHINO, H. FURUKAWA (*Tokai Gakuen University, Ukigai, Miyoshi-cho, Nishikamo-gun,

- Aichi 470-0207, Japan): Cancer chemopreventive activity of rotenoids from *Derris trifoliata*. *Planta med.* **70**, 8-11 (2004). Preparative TLC of 6aa,12aa-12a-hydroxyelliptone, deguelin, a-toxicarol, rotenone, elliptone on silica gel using dichloromethane, benzene - methanol 47:3, n-hexane - ethyl acetate 4:1, and benzene - acetone 47:3. Detection under UV light at 254 nm.
- Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC,
Derris trifoliata, rotenoids 8b
- 93 021 I.-H. PARK, S.-Y. JEON, H.-J. LEE, S.-I. KIM, K.-S. SONG* (*Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, 1370 Sankyuk-Dong, Daegu 702-701, Korea): A β -secretase (BACE 1) inhibitor hispidin from the mycelial cultures of *Phellinus lintens*. *Planta med.* **70**, 143-146 (2004). Analytical and preparative TLC of hispidin (6-(3,4-dihydroxystyryl)-4-hydroxy-2-pyrone) on silica gel with benzene - ethyl acetate - acetic acid 10:1:1. Detection by spraying with iron(III) chloride reagent.
- Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC qualitative identification,
Phellinus lintens 8b
- 93 022 Z. ZHANG, H. N. ELSOHLI*, M. R. JACOB, D. S. PASCO, L. A. WALKER, A. M. CLARK (*National Center for Natural Products Research, School of Pharmacy, University of Mississippi, University, MS 38677, USA): Natural products inhibiting *Candida albicans* secreted aspartic proteases from *Tovomita krukovi*. *Planta med.* **68**, 49-54 (2002). TLC of 3,5-dihydroxy-4-methoxyxanthone, 1,3,5,7-tetrahydroxy-8-isoprenylxanthone, 1,3,5-trihydroxy-8-isoprenylxanthone, 1,5,7-trihydroxy-8-isoprenylxanthone, 1,3,7-trihydroxy-2-isoprenylxanthone, 1,5-dihydroxyxanthone, 1,6-dihydroxy-5-methoxyxanthone, 1,3,5-trihydroxyxanthone, 1,3,6-trihydroxy-5-methoxyxanthone, 1,6-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone, gentisein, 3-geranyl-2,4,6-trihydroxybenzophenone, betulinic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid on silica gel with chloroform - methanol 9:1 and benzene - ethyl acetate 4:1, or on silica gel RP-18 with methanol - water 7:3.
- Pharmaceutical research, qualitative identification, *Tovomita krukovi* 8b

10. Carbohydrates

- 93 023 W. JALYSCHKO, M. RUSSEV, R. BRANDENBURGER, L. W. Kroh* (*Institute of Food Chemistry, Technical University Berlin, Gustav-Meyer-Allee 25, D-13355 Berlin, Germany): Analysis of carbohydrates with planar chromatography. *CBS* **82**, 9-11 (1999). HPTLC-AMD of glucose, malt oligosaccharides, anhydrosugars, transglycosidation products, fructose and its derivatives, maltulose, Amadori-compounds and Heyns-compounds on silica gel. Caramelization: isocratic 23-step gradient based on chloroform - methanol - 0.05 % aqueous boric acid 20:11:2 with 3 mm increments of the developing distance. Maillard-reaction: isocratic 3-step gradient chloroform - dichloromethane - methanol - water 35:15:35:6 over 25, 50, 75 mm developing distance. Detection by dipping in aniline-diphenylamine-phosphoric acid reagent, followed by heating at 120 °C for 10 min. Quantification by absorbance measurement at 385 nm.
- Qualitative identification quantitative analysis AMD 10a
- 93 024 B. P. DA SILVA, J. P. PARENTE* (*Laboratório de Química de Plantas Medicinais, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, PO Box 68045, CEP 21949-970, Rio de Janeiro, RJ Brasil): Chemical properties and biological activity of a polysaccharide from *Melocactus depressus*. *Planta med.* **68**, 74-76 (2002). TLC of monosaccharides (galactose, arabinose) as TMSi methyl glycosides on silica gel with butanol - pyridine - water 6:4:3. Detection by spraying with resorcinol sulfuric acid.
- Pharmaceutical research, qualitative identification,
Melocactus depressus, galactose, arabinose 10a

- 93 025 G. VACCARI*, G. LODI (*Department of Chemistry, University of Ferrara, Via Borsari 45, I-44100 Italy): Identification and quantitative determination of oligosaccharides in beet molasses. *CBS* **84**, 4-7 (2000). HPTLC-AMD of raffinose, sucrose, 1+6-kestoses, neo-kestose, nystose, and fructosyl-nystose on diol layer with a 9-step gradient from acetonitrile/acetone 1:1 - water 85:15 to acetonitrile/acetone 1:1 - water 95:5. Detection by dipping in 4-aminobenzoic acid reagent, followed by heating at 115 °C for 15 min. Quantitative determination by fluorescence measurement at 366/>400 nm and absorbance measurement at 400 nm.
- Quality control, AMD densitometry quantitative analysis, oligosaccharides, beet molasses, sugar production 10a

11. Organic acids and lipids

- 93 004 R. BARTZATT et al., see section 3e
- 93 026 S. ERAZO*, R. NEGRETE, M. ZALDIVAR, N. BACKHOUSE, C. DELPORTE, I. SILVA, E. BELMONTE, J. L. LÓPEZ-PÉREZ, A. S. FELICIANO (*Department of Pharmacological and Toxicological Chemistry, School of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile, P. O. Box 233, Santiago-1, Chile): Methyl psilate: A new antimicrobial metabolite from *Psila bovensis*. *Planta med.* **68**, 66-67 (2002). TLC of methyl psilate on silica gel with dichloromethane - ethyl acetate 9:1. Visualization under UV light at 366 nm, by spraying with anisaldehyde - sulfuric acid and with Liebermann-Burchard reagent. Bioautography after sterilization by UV light at 254 nm: the plate was overlaid with Plate Count Agar, inoculated with an overnight culture, placed in a humid chamber and incubated overnight at 37 °C. The bioautograms were sprayed with an aqueous solution of thiazoyl blue (MTT).
- Pharmaceutical research, qualitative identification, *Psila bovensis*, methyl psilate, bioautography 11a
- 93 016 J.-R. IOSET et al., see section 8b
- 93 029 D. JÄNCHEN* (Ed.) (CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland, dieter.jaenchen@camag.com): Planar chromatography for the analysis of malolactic fermentation. *CBS* **84**, 14-15 (2000). HPTLC of wine samples on silica gel with diisopropyl ether - formic acid - water 16:3:1 with chamber saturation. Detection by heating at 110 °C for 15 min, followed by cooling to room temperature and dipping in bromophenol blue reagent. Quantitative determination of malic, lactic, and succinic acid by absorbance measurement at 430 nm.
- Food analysis, quality control, densitometry, quantitative analysis, malolactic fermentation, wine, malic acid, lactic acid, succinic acid 11a
- 93 003 M. SAJEWICZ et al., see section 2a
- 93 085 J.A. THAKARDA et al., see section 30a
- 93 033 R.F. WILSON*, T.C. MARQUARDT (*USDA-ARS, Raleigh, North Carolina 27695-7620, USA): An improved reversed-phase thin-layer chromatography method for separation of fatty acid methyl esters. *JAOCS* **75**, 1889-1892 (1998). TLC of fatty acid methyl esters from plant tissues on RP-18 phase with acetonitrile - 1,4-dioxane - acetic acid 80:20:1 containing 10 % silver nitrate.

Qualitative identification, argentation chromatography, fatty acid methyl esters 11a

93 149 Y. XIE (Xie Yumei) et al., see section 32c

93 027 H. FARWANAH, K. RAITH*, R. NEUBERT, S. ZELLMER, (*Institute for Pharmaceutical Technology and Biopharmacy, Martin Luther University, W.-Langenbeck-Str. 4, D-06120 Halle, Germany, raith@pharmazie.uni-halle.de): Improved analysis of skin lipids by AMD. CBS **90**, 2-4 (2003). HPTLC-AMD on silica gel with an 11-step gradient with chloroform - ethanol - acetone followed by 3 isocratic steps with chloroform for separation of cholesterol, cholesterol sulfate and various ceramide classes. For separation of cholesterol, fatty acids, triacylglycerol, cholesterol esters, and squalene a 2-step gradient with n-hexane - ethyl acetate followed by an isocratic step with n-hexane. Conditioning between single runs with 4 M acetic acid. Detection by dipping in copper sulfate reagent followed by heating at 150 °C for 20 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 546 nm.

Pharmaceutical research, HPTLC AMD quantitative analysis densitometry, skin lipids, ceramides, fatty acids, cholesterol

11c, 13c, 15a, 17c

93 028 C. HEIFT*, K. SCHIPMANN, R. LANGE (*Degussa Texturant Systems Germany GmbH & Co. KG, Ausschläger Elbdeich 62, D-20539 Hamburg, Germany, claudia.heift@degussa.com): Effective analysis of phospho- and glycolipids in plant lecithins. CBS **90**, 6-7 (2003). HPTLC phospholipids and glycolipids from rape seed on lichrospher silica gel with chloroform - methanol - acetone - water 18:15:2:1 for phospholipid separation and with acetone - chloroform - water 30:15:2 for glycolipid separation, developing distance 70 mm each. Detection by dipping in molybdato-phosphoric acid reagent (5 % in ethanol) followed by heating at 120 °C for 15 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 720 nm.

Herbal, quality control traditional medicine, HPTLC densitometry

11c

93 030 E. REICH* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland): Planar chromatography for the detection of lipids in pot fragments and other artifacts. CBS **85**, 9 (2000). HPTLC of pot fragment extracts on RP-18 plates developed twice at 4 °C with first methanol - acetonitrile - THF 8:2:1 over 20 mm and second methanol - acetonitrile - THF 18: 2:1 over 80 mm after pre-chromatographic derivatization with 1 % N,N'-dicyclohexylcarbodiimide in dichloromethane followed by dansyl semicadaverine in dichloromethane. After drying the plate was dipped in 4 % Triton X100 in hexane. Evaluation at 366/>400 nm.

Qualitative identification, archaeological artifacts, trace analysis, lipids, pot fragments

11c

93 031 B. RENGER* (*Byk Gulden, Robert-Bosch-Str. 8, D-78224 Singen, bernd.renger@byk.de): Analysis of phospholipids/lecithin - cost comparison planar chromatography/HPLC. CBS **81**, 2-5 (1998). The performance and reliability of result of both procedures is comparable - HPTLC being slightly better than HPLC. For the assay of phospholipids in pure substances, pharmaceutical products and lecithin HPTLC is more cost efficient than HPLC by a factor of 2.5.

Quantitative analysis, benchmarking

11c, 2a

93 032 C. SCHAERER* (*Fachhochschule beider Basel FHBB, Department of Chemistry, CH-4132 Muttenz, Switzerland): Comparison of HPLC-ELSD and modern planar chromatography in today's quality control of phospholipids. CBS **89**, 12-15 (2002). HPTLC on silica gel with chloroform - methanol - water - ammonia 24% 65:30:4:2 over 90 mm with chamber saturation for 30 min. Detection by dipping in CuSO₄/H₃PO₄ reagent for 8 s followed by heating at 170 °C for 10 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 500 nm. Comparising operating

costs the HPTLC analysis appears preferable for quality control of samples with known content. HPLC is more cost effective for the analysis of samples with unknown content.

Quality control, comparison of methods, quantitative analysis, densitometry, phospholipids, HPLC

11c

13. Steroids

93 027 H. FARWANAH et al., see section 11c

93 094 J.-J. CHEN et al., see section 32e

14. Steroid glycosides, saponins and other terpenoid glycosides

93 034 F. HU, K. SCHMIDT, S. STOYANOVA, L. ZENGZHI, U. GRÄFE, M. HAMBURGER* (*Institute of Pharmacy, Friedrich-Schiller-University Jena, Semmelweisstr. 10, 07743 Jena, Germany): Radical scavengers from the entomogenous deuteromycete *Beauveria amorpha*. *Planta med.* **68**, 64-65 (2002). TLC of 6-methyl-1,2,4-trihydroxybenzene-1-O- β -D-4'-methylglucopyranoside and (-)-terredionol on silica gel with chloroform - methanol - water 13:7:1. Detection with Godin's reagent or DPPH radical (1 mg/mL in ethanol).

Pharmaceutical research, qualitative identification

14

93 035 T.-H. LEE, G.-J. WANG, C.-K. LEE Y.-H. KUO, C.-H. CHOU* (*Department of Biological Sciences, National Sun Yat-sen University, Kaohsiung, Taiwan 804, Republic of China): Inhibitory effects of glycosides from the leaves of *Melaleuca quinquenervia* on vascular contraction of rats. *Planta med.* **68**, 492-496 (2002). TLC of glycosides (3-hydroxy-5-methoxy-4-methylphenyl β -D-glucopyranoside, 4-benzoyl-2-C- β -glucopyranosyl-3,5-dihydroxy-6-methylphenyl β -D-glucopyranoside, 2-endo- β -D-glucopyranosyloxy-1,8-cineole, and 2-exo- β -D-glucopyranosyloxy-1,8-cineole, roseoside, citroside) on silica gel with ethyl acetate - formic acid - water 17:2:3. Detection under UV light at 254 nm and by dipping in vanillin - sulfuric acid reagent.

Pharmaceutical research, qualitative identification, *Melaleuca quinquenervia*, glycosides

14

93 036 M. SANTOUR, A.-C. MITAINE-OFFER, T. MIYAMOTO, A. DONGMO, M.-A. LACAILLE-DUBOIS* (*Laboratoire de Pharmacognosie, Unité UMIB, EA 3660, Faculté de Pharmacie, Université de Bourgogne, 7, Bd. Jeanne d'Arc, BP 879 00, F-21079 Dijon Cedex, France): Antifungal steroid saponins from *Dioscorea cayensis*. *Planta med.* **70**, 90-92 (2004). HPTLC and TLC of saponins (26-O- β -D-glucopyranosyl-22-methoxy-3 β ,26-dihydroxy-25(R)-furost-5-en-3-O-a-L-rhamnopyranosyl-(1-4)-a-L-rhamnopyranosyl-(1-4)-[a-L-rhamnopyranosyl-(1-2)]- β -D-glucopyranoside, dioscin, and diosgenin 3-O-a-L-rhamnopyranosyl-(1-4)-a-L-rhamnopyranosyl-(1-4)-[a-L-rhamnopyranosyl-(1-2)]- β -D-glucopyranoside) on silica gel with chloroform - methanol - water 13:7:2 (lower phase), of saponin with chloroform - methanol 9:1 and of sugars (e. g. glucose, rhamnose) with chloroform - methanol - water 8:5:1. Detection i. a. under UV light at 254 nm.

Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, *Dioscorea cayensis*

14

93 053 J. WANDJI et al., see section 15a

15. Terpenes and other volatile plant ingredients

- 93 038 S. BLOCK*, C. STÉVIGNY, M.-C. DE PAUW-GILLET, E. DE HOFFMANN, G. LLABRÈS, V. ADJAKIDJÉ, J. QUETIN-LECLERCQ (*Laboratoire de Pharmacognosie, Unité CHAM, UCL 72.30, Avenue E. Mounier 72, 1200 Bruxelles, Belgium): Ent-Trachyloban-3 β -ol, a new cytotoxic diterpene from *Croton zambesicus*. *Planta med.* **68**, 647-649 (2002). TLC of ent-trachyloban-3 β -ol on silica gel with toluene - ethyl acetate - methanol 40:9:1. Detection by derivatization with anisaldehyde - sulfuric acid reagent.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification 15a
- 93 039 Y.-X. CHENG, J. ZHOU*, S.-M. DENG, N.-H. TAN (*Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 659204, Yunnan, P. R. China): New norsesquiterpenoids from *Cucubulus baccifer*. *Planta med.* **68**, 101-103 (2002). TLC of drummondol on silica gel with chloroform - acetone 3:1 or chloroform - methanol - water 30:20:3.
Pharmaceutical research, qualitative identification, *Cucubulus baccifer*, norsesquiterpenoids 15a
- 93 037 J. A. DOUGLAS*, B. M. SMALLFIELD, E. J. BURGESS, N. B. PERRY, R. A. ANDERSON, M. H. DOUGLAS, V. LEANNE GLENNIE (*Crop and Food Research, Ruakura Research Centre, Private Bag 3123, Hamilton, New Zealand): Sesquiterpene lactones in *Arnica montana*: A rapid analytical method and the effects of flower maturity and simulated mechanical harvesting on quality and yield. *Planta med.* **70**, 166-170 (2004). Analytical TLC of acetyldihydrohelenalin, methacryloyldihydrohelenalin, acetyl-, methacryloyl-, isobutyryl-, tigloyl-, 2-methylbutyryl-, and isovalerylhelenalin on silica gel with n-pentane - diethyl ether 1:3. Detection under UV light at 254 nm.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, *Arnica montana* 15a
- 93 027 H. FARWANAH et al., see section 11c
- 93 047 D. N. GUEDES, D. F. SILVA, J. M. BARBOSA-FILHO, I. A. MEDEIROS* (*Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade de Paraíba, Caixa Postal 5009, 58051-970 Joao Pessoa, PB, Brazil): Muscarinic agonist properties involved in the hypotensive and vasorelaxant response of rotundifolone in rats. *Planta med.* **68**, 700-704 (2002). Preparative TLC of rotundifolone on silica gel with hexane by 3-fold development. Visualization under UV light.
Pharmaceutical research, preparative TLC, rotundifolone 15a
- 93 040 J.-T. HAN, H.-Y. KIM, Y.-D. PARK, Y.-H. LEE, K.-R. LEE, B.-M. KWON, N.-I. BAEK* (*Graduate School of Biotechnology, Kyun Hee University, Seochun-Ri 1, Kiheung-Eup, Yongin-Si, Kyunggi-Do 449-701, Korea): Aceriphyllic acid A, a new ACAT inhibitory triterpenoid, from *Aceriphyllum rossii*. *Planta med.* **68**, 558-561 (2002). TLC of 3 new triterpenoids 3-oxoolean-12-en-27-oic acid, 3a-hydroxyolean-12-en-27-oic acid, and β -peltoboykinolic acid on silica gel with n-hexane - ethyl acetate - ethanol 10:1:2.
Pharmaceutical research, qualitative identification, *aceriphyllum rossii*, aceriphyllic acid A 15a
- 93 041 Q.-B. HAN, W. XIANG, R.-T. LI, M.-L. LI, S.-W. LI, H.-D. SUN* (*State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Heilongtan, Kunming 650 204, P. R. China): Cytotoxic ent-kaurane diterpenoids from *Isodon rubescens* var. *rubescens*. *Planta med.* **70**, 269-272 (2004). Analytical and

preparative TLC of i. a. xindonguin D and F, and melissoidesin G on silica gel with chloroform - methanol 7:1; 9:1; 10:1; 20:1 or cyclohexane - isopropanol 4:1 by 3-fold development, 8:1 or cyclohexane - diethyl ether 1:2. Visualization by spraying with 10 % sulfuric acid in ethanol followed by heating.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC qualitative identification 15a

93 008 D. JÄNCHEN* (Ed.), see section 4d

93 056 J. Y. KIM, K.-W. LEE, S.-H. KIM, J. J. WEE, Y. S. KIM, H. J. LEE* (*Department of Food Science and Technology and School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Suwon, 441-744, Korea): Inhibitory effect of tumor cell proliferation and induction of G2/M cell cycle arrest by panaxytriol. *Planta med.* **68**, 119-122 (2002). TLC of the polyacetylenic compound panaxytriol on silica gel with hexane - ethyl acetate 3:1. Visualization under UV light at 254 nm.

Pharmaceutical research, qualitative identification, panaxytriol 15a

93 042 L.-Y. KONG*, M.-J. QIN, M. NIWA (*Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, P. R. China): New cytotoxic bis-labdanic diterpenoids from *Alpina calcarata*. *Planta med.* **68**, 813-817 (2002). Analytical and preparative TLC of calcatararin D and E on silica gel with n-hexane - ethyl acetate 23:2 and 43:7 by 2-fold development. Visualization under UV light at 254 nm and by spraying with 10 % molybdcic acid reagent followed by heating.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC qualitative identification, *Alpina calcarata*, diterpenoids 15a

93 043 J. LEE, B. MIN, S. LEE, M. NA, B. KWON, C. LEE, Y. KIM, K.-H. BAE* (*College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeou 305-764, Korea): Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Carpesium abrotanoides*. *Planta med.* **68**, 745-747 (2002). Preparative TLC of carpesiolin, carabrone, carabrol, telekin, ivalin, and 11,13-didehydroivaxillin on silica gel with n-hexane - ethyl acetate - acetone 3:1:1 and 8:1:1 as well as n-hexane - acetone 2:1.

Pharmaceutical research herbal, preparative TLC, *Carpesium abrotanoides*, sesquiterpene lactones 15a

93 044 R.-W. LIN, I.-L. TSAI, C.-Y. DUH, K.-H. LEE, I.-S. CHEN* (*Graduate Institute of Natural Products, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan 807, Republic of china): New lignans and cytotoxic constituents from *Wikstroemia lanceolata*. *Planta med.* **70**, 234-238 (2004). Analytical and preparative TLC of (-)-aptosimon, (-)-diasesamin-di-y-lactone, (-)-sesamin, (+/-)-syringaresinol, (+)-wikstromol, (+)-hinokinin, palmitic acid, stearic acid, 3,6-dihydroxy-2-methoxy-4-methylacetophenone, 2,6-dimethoxy-p-benzoquinone, and lichenxanthone on silica gel with n-hexane - ethyl acetate 5:1, 10:1 and chloroform - acetone 4:1, 20:1.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, qualitative identification 15a

93 045 A. M. MADUREIRA, M.-J. U. FERREIRA*, N. GYÉMÁNT, K. UGOCSAI, J. R. ASCENSO, P. M. ABREU, J. HOHMANN, J. MOLNÁR (*Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1600-083 Lisboa, Portugal): Rearranged jatrophane-type diterpenes from *Euphorbia* species. Evaluation of their effects on the reversal of multidrug resistance. *Planta med.* **70**, 45-49 (2004). TLC of i. a. portlandicine (2a, 5a, 14a, 17a-tetraacetoxy-3 β -benzoyloxy-15 β -hydroxy-9-oxoparaliane), 1 β , 5a, 14a, 17a-tetraacetoxy-3 β -benzoyloxy-15- β -hydroxy-9-oxo-paraliane, and oleanolic acid on silica gel with dichloromethane - methanol 99:1 by 3-fold development and 49:1 as well as

chloroform by 5-fold development. Visualization under UV light at 254 nm and by spraying with sulfuric acid - acetic acid - water 1:20:4 followed by heating.

Pharmaceutical research, qualitative identification, Euphorbia species 15a

- 93 046 M. MAO, Z. JIA* (*Department of Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000, P. R. China): Eremophilane sesquiterpenes from *Cacalia ainsliaeflora*. *Planta med.* **68**, 55-59 (2002). Analytical and preparative TLC of 3 β -angeloyloxy-8 α -hydroxy-6 β -methoxyeremophil-7(11),9(10)-dien-8,12-olide, 2:3 β -angeloyloxy-6 β ,8 α -dihydroxyeremophil-7(11),9(10)dien-8,12-olide, 5:3,8-oxo-eremophila-6,9-dien-12-oic acid, 3:3 β -angeloyloxy-8 α -hydroxy-6 β -ethoxyeremophil-7(11),9(10)-dien-8,12-olide, 4:3 β -angeloyloxy-8-oxo-eremophila-6,9-dien-12-oic acid on silica gel with chloroform - methanol 12:3:2 and dichloromethane - methanol 10:1.

Pharmaceutical research, qualitative identification, *Cacalia ainsliaeflora* 15a

- 93 048 Y. REN, P. J. HOUGHTON*, R. C. HIDER, M.-J. R. HOWES (*Department of Pharmacy, King's College London, Franklin-Wilkins Building, 150 Stamford Street, London SE1 9NN, United Kingdom) : Novel diterpenoid acetylcholine-esterase inhibitors from *Salvia miltiorhiza*. *Planta med.* **70**, 201-204 (2004). Analytical and preparative TLC of dihydrotanshinone, cryptotanshinone, and tanshinone I, IIA on silica gel with dichloromethane and dichloromethane - ethyl acetate 4:1.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC qualitative identification 15a

- 93 049 N. SULTANOVA, T. MAKHMOOR, A. YASIN, Z. A. ABILOV, V. B. OMURKAMZINOVA, ATTA-UR-RAHMAN, M. I. CHOUDHARY* (*HEJ Research Institute of Chemical Sciences, University of Karachi, Karachi, Pakistan): Isotamarixen - a new antioxidant and propylendopeptidase-inhibiting triterpenoid from *Tamarix hispida*. *Planta med.* **70**, 65-67 (2004). Analytical and preparative TLC of 3 α -(3'',4'')-dihydroxy-trans-cinnamoyloxy)-D-friedoolean-14-en-28-oic acid and isorhamnetin on silica gel with dichloromethane - methanol 46:1 and methanol - chloroform 3:7. Visualization under UV light at 254 nm.

Pharmaceutical research, herbal traditional medicine, preparative TLC, qualitative identification, *Tamarix hispida* 15a

- 93 165 F.M. TRIOLO et al., see section 35b

- 93 050 A. ULUBELEN*, H. BIRMAN, S. ÖKSÜZ, G. TOPEN, U. KOLAK, A. BARLA, W. VOELTER (*Faculty of Pharmacy, University of Istanbul, 34452 Beyazit-Istanbul, Turkey): Cardioactive diterpenes from the roots of *Salvia eriophora*. *Planta med.* **68**, 818-821 (2002). Preparative TLC of i. a. ferruginol, horminone, acetylhorminone, 4,14-dihydroxy-saprorthoquinone, aethiopinone, salvipisone, and salvilimbino on silica gel with petroleum ether, toluene - dichloromethane 17:3, and dichloromethane - methanol 49:1.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, *Salvia eriophora*, diterpenes 15a

- 93 051 C. VALENTE, M. J. U. FERREIRA*, P. M. ABREU, N. GYÉMÁNT, K. UGOCSAI, J. HOHMANN, J. MOLNÁR (*Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1 600-083 Lisboa, Portugal): Pubescenes, jatrophone diterpenes, from *Euphorbia pubescens*, with multidrug resistance reversing activity on mouse lymphoma cells. *Planta med.* **70**, 81-84 (2004). Preparative TLC of pubescene D (3 β -,9 α -diacetoxy-7 β -benzoyloxy-15 β -hydroxy-14-oxo-2 β H-jatropha-5E,12E-diene) on silica gel with chloroform - acetone 9:1. Detection under UV light at 254 nm.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, *Euphorbia pubescens* 15a

- 93 052 C. VALENTE, M. PEDRO, J. R. ASCENSO, P. M. ABREU, M. S. J. NACIMENTO, M.-J. U. FERREIRA*, (*Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1600-08 3 Lisboa, Portugal): Euphobubescenol and euphobubescene, two new jatrophone polyesters, and lathyrane-type diterpenes from *Euphorbia pubescens*. *Planta med.* **70**, 244-249 (2004). TLC of euphobubescenol (5a,8a,15β-triacetoxy-3a-benzoyloxy-4a-hydroxy-9,14-dioxo-13βH-jatropha-6(17),11E-diene, jolkinaol A, and A' on silica gel with chloroform - methanol 39:1 by 3-fold development, chloroform - methanol 19:1 by 2-fold development, secondly chloroform - methanol 9:1. Visualization under UV light and by spraying with sulfuric acid - acetic acid - water 1:20:4 followed by heating.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification 15a
- 93 053 J. WANDJI*, F. TILLEQUIN, D. A. MULHOLLAND, J.-D. WANSI, T. Z. FOMUM, V. FUENDIJEI, F. LIBOT, N. T. SABANG (*Department of Organic Chemistry, University of Yaounde-1, Faculty of Science, P. O. Box 812, Yaounde, Cameroon): Fatty acid esters of triterpenoids and steroid glycosides from *Gambeya africana*. *Planta med.* **68**, 822-826 (2002). TLC of β-amyrin stearate, β-amyrin eicosanoate, β-amyrin docosanoate, and erythrodiol fatty acid esters on silica gel with n-hexane - dichloromethane 4:1, and dichloromethane - methanol 19:1. Visualization under UV light at 254 and 366 nm and by spraying with 1 % vanillin - 5 % sulfuric acid reagent followed by heating at 100 °C. Also TLC of xylose and glucose with i-propanol - water 17:3 and detection with p-anisidine phthalic acid reagent.
Pharmaceutical research herbal, qualitative identification, *Gambeya africana* 15a, 14
- 93 054 M. WERTHER* (*Institut für Tierarzneimittel GmbH, Berliner Allee 317-321, D-13088 Berlin, Germany, margit.werther @camag-berlin.de): Testing of feed mixers by HPTLC. *CBS* **89**, 9 (2002). HPTLC of feedstuff on silica gel with 1) chloroform - methanol 1:1 over 30 mm followed by drying and 2) n-hexane - acetone 4:1 over 50 mm in horizontal development chamber with sandwich configuration. Quantitative determination by absorbance measurement at 466 nm.
Quality control, densitometry, quantitative analysis, feed mixers, accuracy of mixing, canthaxanthine 15a
- 93 055 W. XIA (Xia Wei)*, X. ZHANG (Zhang Xinzhi) (*Coll. Materials Sci. & Chem. Eng., Zhejiang Univ., Hangzhou 31002 7, P. R. China): (Isolation of β-carotene from discarded tobacco leaves.) (Chinese). *Chinese J. Chromatogr. (Sepu)* **22** (1), 54-56 (2004). TLC of the leave extract or eluate (on silica gel column eluted with petroleum ether) on silica gel with benzene - acetone 4:1. Detection by iodine vapour. Identification by comparison with the standard and NMR. Quantitation by HPLC.
Agricultural, quality control, qualitative identification, β-Carotene 15a, 4e, 30
- 93 159 C. YANG et al., see section 32e

17. Amines, amides and related nitrogen compounds

- 93 004 R. BARTZATT et al., see section 3e
- 93 057 M. STOYKE* (*Institute for Veterinary Pharmacology and Toxicology GmbH, Weissenseer Str. 36, D-16321 Bernau, Germany): Determination of histamine in fish and fish products by HPTLC. *CBS* **83**, 9-11 (1999). HPTLC of histamine in fish on RP-18 W with n-propanol - 25 % ammonia 4:1 without chamber saturation. Detection by dipping in Pauly's reagent. Evaluation with video

technology and quantitative determination by absorption measurement at 530 nm.

Food analysis, quality control, quantitative analysis, densitometry,
histamine, fish, video technology 17a

- 93 058 Y. YANG (Yang Yun)*, Y. FENG (Feng Yinman), T SHI (Shi Tianjun), Y. WANG (Wang Yuming) (*Henan Coll. TCM, Zhengzhou, 450008, P. R. China): (Study of the quality standard for Wuziyanzong pills.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (7), 538-540 (2004). TLC on silica gel with 1) petroleum ether - ethyl acetate - butanone \neq methanol - water 15:25:3:7:1; 2) petroleum ether - ethyl acetate - formic acid 15:5:1. Detection 1) under UV light, 2) by spraying with 5 % potassium iodobismuthate solution and heating at 105 °C for 5 min. Identification by fingerprint technique. Quantification of betaine by densitometry at 514 nm. Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, densitometry, quantitative analysis 17a, 4d, 32c
- 93 094 J.-J. CHEN et al., see section 32e
- 93 027 H. FARWANAH et al., see section 11c

18. Amino acids and peptides, chemical structure of proteins

- 93 059 B. CLASSEN*, W. BLASCHEK (*Pharmazeutisches Institut der Christian Albrechts-Universität Kiel, Abteilung Pharmazeutische Biologie, Gutenbergstr. 76, 24118 Kiel, Germany): An arabinogalactan-protein from cell culture of *Malva sylvestris*. *Planta med.* **68**, 232-236 (2002). HPTLC of Arg, Asx, Glx, Ser, Thr, Ala on silica gel with acetonitrile - water - acetic acid 85:14:1, 3-fold horizontal development followed by heating at 80 °C for 10 min after each development. Detection of amino acids by derivatization with ninhydrin reagent, followed by heating at 120 °C for 10 min. Visualization of Hyp by derivatization with NBD-chloride reagent (sodium acetate in aqueous methanol and 0.2 % 7-chloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole in ethanol), followed by heating (110 °C, 2 min) and treatment with fumes of hydrochloric acid. Pharmaceutical research, qualitative identification, amino acids 18a
- 93 060 B. HESS, J. SHERMA* (*Dep. Chem., Lafayette College, Easton, P.A. 18042, USA): Quantification of arginine in dietary supplement tablets and capsules by silica gel high performance thin-layer chromatography with visible mode densitometry. *Acta Chromatographica* **14**, 60-69 (2004). TLC on silica gel with 1-butanol - glacial acetic acid - water 3:1:1 with chamber saturation. Detection by spraying with ninhydrin reagent (0.3 g ninhydrin in 100 mL 1-butanol plus 2 mL glacial acetic acid), followed by heating at 110 °C for several min. Quantification by densitometry at 495 nm. Validation of the accuracy by analysis of spiked blank and standard addition samples and precision by performing replicate analysis on a single day and on different days. Recoveries and RSD for spiked blank and standard addition samples were 98.8 % and 98.5 %, 1.92 % and 0.67 %, respectively. Discussion of use of the method for the routine quality control of nutritional supplements. Food analysis, quality control, traditional medicine, quantitative analysis 18a
- 93 061 E. REICH* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland): Cleaning validation - an ideal task for the automatic TLC sampler ATS4. *CBS* **85**, 4-5 (2000). HPTLC of peptide fragment A on lichrospher silica gel with dichloromethane over 50 mm. Quantitative

determination by absorbance measurement at 250 nm. Precision is 0.23 % (n=10 at 50 ng) and repeatability 2.9 % (n=30 over 5 plates at 50 ng), recovery is found to be 104 % at 50 ng.

Quality control, quantitative analysis, densitometry, cleaning validation 18b

22. Alkaloids

- 93 066 A. H. ABOU-DONIA, M. E. AMER, F. A. DARWISH, F. F. KASSEM, H. M. HAMMODA, M. S. ABDEL-KADER*, B.-N. ZHOU, D. I. G. KINGSTON (*Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Alexandria University, Alexandria, Egypt): Two new alkaloids of the crinane series from *Pancreatium Sickenbergeri*. *Planta med.* **68**, 377-379 (2002). Analytical and preparative TLC of ent-6a/6 β -hydroxybuphanisine, haemanthamine, norgalathamine, vittatine, 11-hydroxyvittatine, and (-)-8-demethylmaritidine on silica gel using chloroform - methanol 19:3 and 9:1.

Pharmaceutical research, qualitative identification, preparative TLC,
Pancreatium Sickenbergeri, crinane series 22

- 93 062 B. AKENDENGUE, E. NGOU-MILANA, F. ROBLLOT, A. LAURENS*, R. HOCQUEMILLER, P. GRELLIER, F. FRAPPIER (*Laboratoire de Pharmacognosie, UPRES-A CNRS 8076 (BioCIS), Faculté de Pharmacie, F-92296 Châtenay-Malabry, France): Antiplasmodial activity of *Uvaria klaineana*. *Planta med.* **68**, 167-169 (2002). Preparative TLC of crotosparine, crotonosine, and zenkerine on silica gel with ethyl acetate - methanol 6:4. Visualization under UV light.

Pharmaceutical research, preparative TLC, *Uvaria klaineana*,
crotosparine, crotonosine, zenkerine 22

- 93 064 C. CABALLERO-GEORGE, A. J. VLIETINCK* (*Department of Pharmaceutical Sciences, University of Antwerp (UIA), Universiteitsplein-1, 2610, Antwerpen, Belgium): Inhibitory activity on binding of specific ligands to the human angiotensinII AT1 and endothelin 1 ETA receptors: Bioactive benzophenanthridine alkaloids from the root of *Bocconia frutescens*. *Planta med.* **68**, 770-775 (2002). Preparative and analytical TLC of chelirubine, sanguinarine, macarpine, and chelerythrine on silica gel and aluminum oxide with chloroform - methanol 49:1. Detection under UV light.

Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, preparative TLC,
Bocconia frutescens, benzophenanthridine alkaloids 22

- 93 065 J.-J. CHEN, Y.-L. CHANG, C.-M. TENG, C.-C. SU, I.-S. CHEN* (*Graduate Institute of Pharmaceutical Sciences, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan, Republic of China): Quinoline alkaloids and anti-platelet aggregation constituents from the leaves of *Melicope semecarpifolia*. *Planta med.* **68**, 790-793 (2002). Preparative and analytical TLC of melisemine, confusadine, melicarpinone, edulinine, (S)-(-)-7,8-dimethoxyplatydesmine, isoplatydesmine, skimmianine, confusaneline, kokusaginine, and haplopine on silica gel with chloroform - acetone 5:1 and 10:1, chloroform - methanol 25:1 and 3:1, benzene - ethyl acetate 1:1, benzene - methanol 10:1, and ethyl acetate - methanol 10:1.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, qualitative identification,
Melicope semecarpifolia 22

- 93 103 N. F. DE MOURA et al., see section 32e

- 93 067 J. HOHMANN*, P. FORGO, J. MOLNÁR, K. WOLFARD, A. MOLNÁR, T. THALHAMMER, I. MÁTHÉ, D. SHARP LES (*Department of Pharmacognosy, University of Szeged, P. O. Box

- 121, 6701 Szeged, Hungary): Antiproliferative amaryllidaceae alkaloids isolated from the bulbs of *Sprekelia formosissima* and *Hymenocallis x festalis*. *Planta med.* **68**, 45 4-457 (2002). Preparative TLC of (+)-tazettine, (+)-pretazettine, (+)-3-epimacronine, (-)-lycorine, (-)-haemanthidine, (+)-haemanthamine, (+)-8-O-demethylmaritidine, ismine, trisphaeridine on silica gel with benzene - chloroform - methanol 7:2 :1 in ammonia vapour, chloroform - methanol 9:1 and cyclohexane - ethyl acetate - ethanol 15:10:1.
- Pharmaceutical research, qualitative identification, preparative TLC, *Sprekelia formosissima*, amaryllidaceae alkaloids 22
- 93 068 S.-H. JIANG, P.-M. YANG*, H. ZHOU, D.-Y. ZHU (*Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, 1320 Beijing Road (w.), Shanghai 200040, P. R. China): Two norditerpenoid ester alkaloids from *Aconitum bulleyanum*. *Planta med.* **68**, 114 7-1149 (2002). Analytical and preparative TLC of talatisamine, 8-O-acetyl-14-p-methoxybenzoate and 14-p-methoxybenzoate of talatisamine on silica gel with chloroform - methanol 20:1. Visualization by derivatization with Dragendorff's reagent.
- Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, preparative TLC, *Aconitum bulleyanum* 22
- 93 069 S. KOUL, T. K. RAZDAN*, C. S. ANDOTRA, A. K. KALLA, S. KOUL, S. C. TANEJA (*Department of Chemistry, University of Jammu, Ambedkar Road, Jammu-180006, India): Benzophenanthridine alkaloids from *Corydalis flabellata*. *Planta med.* **68**, 262-265 (2002). TLC of 6-(2-hydroxyethyl)-5,6-dihydrosanguinarine, 6-acetyl-5,6-dihydrosanguinarine, N-methyl-2,3,7,8-tetramethoxy-5,6-dihydrobenzophenanthridine-6-ethanoic acid, N-methyl-2,3,7,8-tetramethoxy-6-oxo-5,6-dihydrobenzophenanthridine, oxosanguinarine, spallidamine, 6-acetyl-5,6-dihydrochelerythrine, 6-oxochelerythrine, and sanguidimerine on silica gel with benzene - ethyl acetate 9:1, 8:2 and 7:3.
- Pharmaceutical research, qualitative identification, benzophenanthridine alkaloids, *Corydalis flabellata* 22
- 93 070 A. PACI*, L. MERCIER, P. BOURGET (*Dept. of Clinical Pharm., Inst. Gustave Roussy, 39 Rue Camille Desmoulins, F-94805 Villejuif Cedex, France. apaci@igr.fr): Rapid analysis of vincal alkaloids in infusion bags. *CBS* **91**, 2-4 (2003). HPTLC on silica gel with dichloromethane - methanol 93:7 over 50 mm after preconditioning for 10 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 274 nm. Repeatability is better than 3.5 % and intermediate precision better than 5.1 %.
- Pharmaceutical research, quality control, herbal, densitometry 22
- 93 071 Y. SHELUDKO, I. GERASIMENKO, H. KOLSHORN, J. STÖCKIGT* (*Department of Pharmaceutical Biology, Institute of Pharmacy, Johannes Gutenberg-University, Staudinger Weg 5, D-55099 Mainz, Germany): Isolation and structure elucidation of a new indole alkaloid from *Rauwolfia serpentina* hairy root culture: The first naturally occurring alkaloid of the raumacline group. *Planta med.* **68**, 435-439 (2002). TLC of 10-hydroxy-N(a)-demethyl-19,20-dehydro-raumacline on silica gel with ethyl acetate - methanol - water - ammonia 70:20:10:1, chloroform - methanol - water - ammonia 50:45:5:1 and 50:40:10:1. Detection under UV light at 254 nm and after spraying with ceric ammonium sulfate (CAS) reagent.
- Pharmaceutical research, qualitative identification, *Rauwolfia serpentina*, indole alkaloid 22
- 93 072 C.-H. TAN, B.-D. WANG, S.-H. JIANG, D.-Y. ZHU* (*State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institute of Biological Sciences, Chinese Acade-

my of Sciences, 294 Taiynan Road, Shanghai 200 031, P. R. China): New Lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata*. *Planta med.* **68**, 188-190 (2002). TLC of 11a-hydroxyphlegmariurine B, 7a-hydroxyphlegmariurine B, 7a,11a-dihydroxyphlegmariurine on silica gel with chloroform - methanol 12:1. Detection by iodine vapor.

Pharmaceutical research, qualitative identification,
Huperzia serrata, lycopodium alkaloids

22

93 073 W. TERNES* (*Center for Food Sciences, Veterinary School of Hannover, Postfach 71 11 80, D-30545 Hannover, Germany, waldemar.ternes@tiho-hannover.de): HPTLC method for the determination of ergot alkaloids in grain, flour, and bread. *CBS* **82**, 12-15 (1999). HPTLC of ergometrine, ergotamine, and ergocryptine on silica gel with dichloromethane - methanol 9:1 with chamber saturation. Quantification by fluorescence measurement at 245/>310 nm.

Quantitative analysis, densitometry, ergometrine, ergotamine, ergocryptine 22

93 074 M. VANHAELEN*, J. DUCHATEAU, R. VANHAELEN-FASTRÉ, H. JAZIRI (*Laboratory of Pharmacognosy and Bromatology, Pharmaceutical Institute, Université Libre de Bruxelles, CP 205-4, Bd. du Triomphe, 1050 Bruxelles, Belgium): Taxanes in *Taxus baccata* pollen: Cardiotoxicity and/or allergenicity? *Planta med.* **68**, 36-40 (2002). Analytical and preparative TLC of taxine B, paclitaxel, baccatin III, 10-deacetyl baccatin III on silica gel with chloroform - methanol 24:1. Visualization by spraying with Dragendorff and iodoplatinate reagent or a 3 % sulfuric acid ethanolic solution and heating at 120 °C for 5 min.

Pharmaceutical research, qualitative identification, *Taxus baccata*, taxanes

22

93 063 C. C. W. WANJALA, B. F. JUMA, G. BOJASE, B. A. GASHE, R. R. T. MAJINDA* (*Department of Chemistry, University of Botswana, Private Bag 00704, Gaborone, Botswana): Erythrina alkaloids and antimicrobial flavonoids from *Erythrina latissima*. *Planta med.* **68**, 640-642 (2002). Analytical and preparative TLC of i. a. (+)-10,11-dioxoerysotrine, erysotrine, syringaresinol, erybraedin, neobavaisoflavone, abyssinone IV, neorautenol, isoneorautenol, shinpterocarpin, and erythrinin B on silica gel with chloroform - ethyl acetate 6:1 by 3-fold development. Visualization under UV light at 254 and 366 nm and by spraying with vanillin - sulfuric acid reagent. TLC bioautography for antibacterial and antifungal assays.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, qualitative identification,
Erythrina latissima, flavonoids, alkaloids

22, 8a

93 075 X. ZHANG (Zhang Xuelan)*, ZH. ZHANG (Zhang Zhaowang) (*Shangdong Univ. TCM, Jinan 250014, P. R. China): (Comparative study of extraction combination isolated from ingredients of Jiaotai pills by semi-bionic extraction.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (7), 526-529 (2004). TLC on silica gel with benzene - ethyl acetate - methanol - isopropanol - conc. ammonia 20:10:5:5:1. Detection of berberine chloride under UV 365 nm. Identification by standard comparison. Quantification by densitometry at 342 nm. GC of volatile oil and HPLC of cinnamyl aldehyde. Discussion of the optimization of the extraction methods of combined ingredients of the medicine.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, semi-bionic extraction,
berberine chloride, volatile oil, cinnamyl aldehyde

22, 4d, 23e

23. Other substances containing heterocyclic nitrogen

93 084 M. BEAUFOUR et al., see section 29f

93 110 H. JEHLE et al., see section 32a

93 075 X. ZHANG (Zhang Xuelan) et al., see section 22

27. Vitamins and various growth regulators

93 076 E. I. PONDER, B. FRIED, J. SHERMA* (*Dep. Chem., Lafayette College, Easton, P.A. 18042, USA): Thin-layer chromatographic analysis of hydrophilic vitamins in standards and *Helisoma trivolvis* snails. *Acta Chromatographica* **14**, 70-81 (2004). TLC of thiamine (B1), riboflavin (B2), niacin (B3), pyridoxine (B6), cobalamin (B12) ascorbic acid (C) and folic acid on silica gel and chemical bonded silica gel with 14 mobile phases, three of which giving the best separation: 1) 1-butanol - chloroform - acetic acid - ammonia - water 7:4:5:1:1, 2) benzene - methanol - acetone - acetic acid 14:4:1:1, 3) chloroform - ethanol - acetone - ammonia 2:2:1:1. Detection in visible light, under UV light at 254 nm and 366 nm. Evaluation of other detection methods such as spraying with 0.5 % ether solution of iodine - Dragendorff reagent for B1, 1 % methanol solution of 1-chloro-2,4-dinitrobenzene followed by 3 M NaOH for B3 and B6, 0.4 % methanol solution of 2,6-dichloroquinone-4-chloroimide for B6, 1:1 mixture of 2 % H₂SO₄ - ethanol and 0.2 % ethanol solution of p-dimethylaminocinnaldehyde for biotin. Quantification by video densitometry. Discussion of identification of vitamins in biological samples by using different visualization method in combination with R_f values.

Traditional medicine, food analysis quality control, densitometry

27

28. Antibiotics, mycotoxins

93 079 L. VICARD*, P. CHARBINAT, F. DUBOST (*Aventis Pharma S.A, LABS, 31-33 Quai Armand Barbès, F-69583 Neuville-sur-Saone, France. louise.vicard@aventis.com): Determination of antibiotics in waste water after biological treatment. *CBS* **90**, 14 (2003.) HPTLC of waste water on silica gel with dichloromethane - methanol - ammonia 90:10:1. Quantitative determination by absorbance measurement at 270 nm.

Environmental, densitometry, quantitative analysis,
qualitative identification, antibiotics

28a, 37c

93 080 I. VOVK*, B. SIMONOVSKA (*National Institute of Chemistry, Hajdrihova 19, SI-1000 Ljubljana, Slovenia, irena.vovk@ki.si, breda.simonovska@ki.si): Cleaning validation by TLC determination of norfloxacin as residue on pharmaceutical equipment surfaces. *CBS* **89**, 2-3 (2002). HPTLC of norfloxacin on silica gel (prewashed with methanol - chloroform 1:1) with methanol - chloroform - ammonia 51:34:15 in horizontal developing chamber with sandwich configuration. Quantitative determination by fluorescence measurement at 313/>400 nm.

Quality control, quantitative analysis, densitometry,
cleaning validation, norfloxacin

28a, 37

93 081 CH. WEINS* (*Staatliches Institut für Gesundheit und Umwelt des Saarlandes, D-66117 Saarbrücken, Germany): Detection of antibiotic substances in municipal waste water treatment facilities. *CBS* **85**, 10-11 (2000). HPTLC-AMD of water samples on silica gel with 33-step gradient from acetonitrile - ammonia to dichloromethane and dichloromethane - acetic acid to n-hexane. Detection via Chrom Biodip (Merck) by dipping in bacteria solution (*Bacillus subtilis*) followed

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.

Derivatisierung

Die Möglichkeit der bequemen spezifischen oder nicht-spezifischen chemischen Derivatisierung, oft mit Erwärmen verbunden, ist eine wesentliche Stärke der Planar-Chromatographie.

Gründe, die Derivatisierung als HPTLC-Schritt zu wählen, können sein:

- Umsetzung von nicht-absorbierenden Substanzen in detektierbare Derivate
- Verbesserung der Detektierbarkeit (Herabsetzen der Nachweisgrenze)
- Nachweis aller Probenkomponenten
- Selektive Detektion einzelner Substanzen
- Induktion von Fluoreszenz
- Eine Vielzahl von Derivatisierungsreagenzien ist vorhanden (siehe Tabelle).

Von einem technischen Standpunkt aus muss vor allem entschieden werden, wie das Reagenz auf die Platte übertragen werden soll. Die Derivatisierung kann über die Gasphase erfolgen oder durch Sprühen bzw. Tauchen.

Derivatisierung über die Gasphase

Die Derivatisierung über die Gasphase ermöglicht eine schnelle und gleichmässige Übertragung des Reagenzes. Leider sind aber nur wenige Reagenzien geeignet, z. B. Jod, Brom, Chlor, flüchtige Säuren und Basen, sowie andere Gase wie H_2S und NO . In der Praxis erfolgt die Derivatisierung über die Gasphase am einfachsten in der Doppeltrogkammer, wobei sich das Reagenz im hinteren Trog befindet oder dort generiert wird (z. B. Chlor aus HCl und Permanganat) und die Platte im vorderen Trog mit der Schicht nach innen platziert wird.

Sprühen

Sprühen ist die gebräuchlichste Weise, ein Reagenz einfach und schnell auf die Platte zu übertragen. Es wird keine teure Ausrüstung benötigt und nur kleine Reagenzvolumina werden gebraucht. Sprühen ist sehr flexibel, was besonders vorteilhaft ist, wenn mehrere Reagenzien sequentiell aufgetragen werden müssen. Auch auf der Suche nach einem geeigneten Reagenz während der Methodenentwicklung, ist Sprühen die Methode der Wahl.

Andererseits entstehen beim Sprühen nicht unerhebliche Mengen an unangenehmen und gefährlichen Dämpfen, die sorgfältig mit Hilfe eines Sprühkabinetts entfernt werden müssen. Ein anderes Problem des Sprühens ist die Schwierigkeit, eine gleichmässige und definierte Derivatisierung der gesamten Platte zu erreichen. Besonders für eine quantitative Auswertung erfordert das Sprühen grosse Fertigkeiten um reproduzierbare Resultate zu erzeugen.

Das Sprühgerät muss einen ganz feinen Nebel erzeugen und darf nicht spritzen. Bei der Verwendung von Druckluft wird die optimale Leistung oft vom Luftdruck und auch vom Abstand zwischen Sprühkopf und Platte beeinflusst. Bei Sprühbeginn wird der erzeugte Nebel erst auf die Platte gerichtet, wenn er fein und homogen ist. Dann wird der Sprühkopf langsam meanderförmig über die Platte geführt, zuerst von oben nach unten, dann von links nach rechts. Dabei sollen sich die Wendepunkte ausserhalb der Platte befinden. Die Menge an Reagenz, die so auf die Platte gelangt, ist schwierig zu kontrollieren, aber mit etwas Übung ist es möglich, gleichmässige Resultate zu erhalten.

Tauchen

Eine sehr homogene Derivatisierung kann durch Tauchen der Platte in das Reagenz erreicht werden. Die Auf- und Abbewegung muss gleichmässig und ruckfrei erfolgen, um die Bildung von Tauchlinien zu vermeiden. Der Einsatz einer automatischen Tauchvorrichtung kann die Reproduzierbarkeit des Derivatisierungsschritts gegenüber dem Sprühen deutlich verbessern.

Die Konzentration des Reagenzes kann leicht konstant gehalten werden, und durch die Veränderung der vertikalen Geschwindigkeit und der Eintauchzeit kann die Menge des übertragenen Reagenzes bzw. die Reaktionszeit variiert werden. Bei dieser Technik werden keine Dämpfe erzeugt, und der Kontakt mit giftigen Chemikalien ist sehr gering. Nach dem Tauchen ist die Platte oft mit überschüssiger Flüssigkeit bedeckt. Um eine unnötige Verbreiterung der getrennten Zonen zu vermeiden, soll die Platte möglichst schnell getrocknet werden.

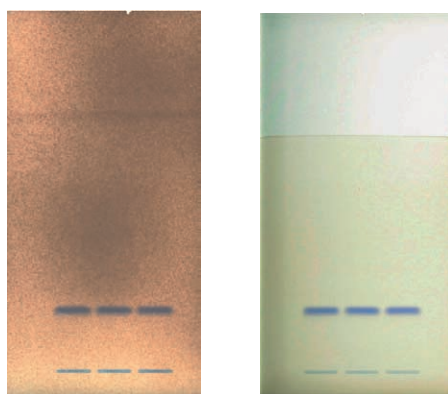


Abb. 1 Derivatisierung von Capsaicin mit Dichlorchinon-Chlorimid-Reagenz/Ammoniak durch Sprühen (1 g/L, linke Seite) und durch Tauchen (0.25 g/L, rechte Seite)

In den meisten Fällen können die gleichen Reagenzien zum Sprühen und Tauchen verwendet werden (Abb. 1). Jedoch sind Tauchreagenzien meist weniger konzentriert (bis zu zehn Mal, meistens vier Mal) und sollten in weniger polaren Lösungsmitteln gelöst werden.

Erhitzen

Die meisten chemischen Derivatisierungs-Reaktionen benötigen Wärme. Als Heizquellen dienen Öfen und Plattenheizer. In der Routine und für quantitative Analysen ist es sehr wichtig, dass die Platte homogen und reproduzierbar erhitzt wird. Öfen haben zwei grosse Nachteile. Aufgrund der manchmal aggressiven Dämpfe, die während Reaktionen entstehen, werden Korrosion und auch Kreuzkontamination zum Problem. Der andere Nachteil ist, dass der Derivatisierungsprozess normalerweise nicht beobachtet werden kann.

Plattenheizer sind daher eine häufig gebrauchte Alternative. Diese Instrumente erzeugen eine konstante Temperatur auf ihrer Oberfläche. Wenn eine Platte auf die heisse Oberfläche (Temperaturen höher als 120 °C) gelegt wird, verbiegen sich deren Ränder bedingt durch die schlechte Wärmeleitfähigkeit von Glas. Dies resultiert zunächst in einer stärkeren Erwärmung der Plattenmitte. Innerhalb weniger Minuten werden diese Unregelmässigkeiten aber normalerweise ausgeglichen. Für reproduzierbare Resultate sollte die Temperatur der Derivatisierung daher so eingestellt werden, dass die Platte mindestens fünf Minuten geheizt wird.

Schlussfolgerungen

In der Praxis sollte folgendes beachtet werden:

- Derivatisierung wird meistens durchgeführt, um ein Chromatogramm sichtbar zu machen. Je nach analytischem Ziel und der Art der anschliessenden Auswertung ist die Reproduzierbarkeit wichtig oder nicht.
- Normalerweise wird das Ergebnis einer chemischen Derivatisierung – besonders die Farbe und/oder Fluoreszenz der derivatisierten Zonen – von der Zeit/Temperatur des Erhitzens und Konzentration des Reagenzes beeinflusst. Diese können aber einfach kontrolliert werden. Andere Faktoren – wie z. B. Trocknung (Temperatur und Zeit) der entwickelten Platte vor der Derivatisierung – werden zwar oft übersehen, können aber das Resultat ebenfalls beeinflussen (Abb. 2). Um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, sollte der Derivatisierungsschritt einen genau dokumentierten Ablauf haben.

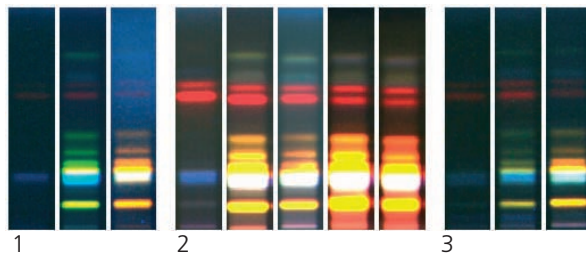


Abb. 2 Derivatisierung von Flavonoiden (Johanniskraut, *Hypericum perforatum*) mit Naturstoffreagenz (NP) und Polyethylenglykol (PEG).

Set 1: Trocknung der Platte während 3 min in kalter Luft, links nach rechts: UV 366 nm, NP, NP/PEG

Set 2: Trocknung der Platte während 5 min bei 105 °C, links nach rechts: UV 366 nm, NP, NP 30 min später, NP/PEG, NP/PEG 30 min später

Set 3: Trocknung der Platte während 30 min bei 105 °C, links nach rechts: UV 366 nm, NP, NP/PEG

- Ist eine Sichtbarmachung der Zonen nicht notwendig, kann die Derivatisierung auch unvorteilhaft sein. Zum Beispiel: Progesteron hat ein Chromophor und absorbiert UV-Licht bei 254 nm. Es kann somit ohne Derivatisierung detektiert werden. Wenn notwendig, kann die Substanz mit Schwefelsäure sichtbar gemacht werden. Der Vergleich der Standardabweichungen der densitometrischen Auswertung des derivatisierten und nicht-derivatisierten Progesterons ist nachfolgend gegenüber gestellt. Das beste Resultat wird ohne Derivatisierung erreicht. Sprühen liefert die schlechteste Reproduzierbarkeit über die Platte.

Auswertung von Progesteron

	Keine Derivatisierung	Derivatisierung durch Tauchen	Derivatisierung durch Sprühen
Densitometrie	Abs. 254 nm	Abs. 536 nm	Abs. 536 nm
Progesteron, VK von 16 Proben, 6 mm Banden	1.1%	2.4%	2.9%

Häufig verwendete Derivatisierungs-Reagenzien

Reagenz	Preparation, Gebrauch	Visualisation	Detektion von
Ammoniak Dampf	Die Platte wird in eine mit Ammoniakdampf (25%) gesättigte Kammer gestellt. Die Platte kann erhitzt werden (Opiate).	Weisslicht, UV 366 nm	Opiate, Valepotriate Mycotoxine, Flavonoide, Sennoside
Anilin-Diphenylamin-Phosphorsäure	4 g Diphenylamin und 4 mL Anilin werden in 160 mL Aceton aufgelöst. 30 mL o-Phosphorsäure werden vorsichtig dazu gegeben. Die Platte wird 1 s ins Reagenz getaucht, dann bei 85–120 °C für 10 min erhitzt.	Weisslicht	Zucker, Glycoside
Anisaldehyd-Schwefelsäure	10 mL Schwefelsäure werden vorsichtig zu einer eisgekühlten Mischung von 170 mL Methanol und 20 mL Essigsäure hinzugefügt. In diese Lösung wird 1 mL Anisaldehyd gegeben. Die Platte wird 1 s ins Reagens getaucht, dann bei 100 °C für 2–5 min erhitzt.	Weisslicht, UV 366 nm	Terpene, Saponine, Sterole, die meisten lipophilen Substanzen
2,6-Dibromochinon-(oder Dichlorochinon)-4-chlorimid (Gibbs' Reagenz)	50 mg 2,6-Dibromochinon-(oder Dichlorochinon)-4-chlorimid werden in 200 mL Ethylacetat gelöst. Die Platte wird ins Reagenz getaucht, im Kaltluftstrom getrocknet, dann bis zur Anfärbung in eine mit Ammoniak gesättigte Kammer gestellt.	Weisslicht	Arbutin, Vitamin B ₆ , Phenole, Cumarine, Thiole, Thione, Capsaicin, Antioxidantien, Amine
Dragendorff-Reagenz	Lösung A: 0.85 g basisches Wismutsubnitrat werden in 10 mL Essigsäure und in 40 mL Wasser gelöst. Lösung B: 8 g Kaliumiodid werden in 30 mL Wasser gelöst. Vor dem Sprühen werden 1 mL von jeder Lösung mit 4 mL Essigsäure und 20 mL Wasser gemischt.	Weisslicht	Alkaloide, heterocyclische Nitroverbindungen, Polyethylenglycol
Echt Blau Salz B	0.5 g Echt Blau Salz B werden in 100 mL Wasser gelöst. Die Platte wird gesprüht oder getaucht, dann getrocknet.	Weisslicht, UV 366 nm	Phenolische Verbindungen, Tannine, Cannabinoide
Jod (Sprühlösung) Joddampf	0.5 g Jod werden in 100 mL Ethanol gelöst. Die Platte wird besprüht, bis der Hintergrund hellgelb ist. Die Platte wird in einer chromatographischen Kammer dem Joddampf ausgesetzt bis Zonen erscheinen.	Weisslicht, UV 366 nm (nach Abdampfen von nicht-gebundenen Jod)	Konjugierte Doppelbindungen, Alkaloide, Purin-Derivate, Lipide, Carotinoide
Naturstoff/ Polyethylenglykol	Lösung A: 1 g Diphenylborsäure-aminoethylester wird in 200 mL Ethylacetat gelöst. Lösung B: 10 g Polyethylenglykol 400 (Macrogol) werden in 200 mL Dichlormethan gelöst. Die Platte wird bei 100 °C für 3 min erhitzt, dann noch heiß in Lösung A getaucht, im Kaltluftstrom getrocknet, dann in Lösung B getaucht.	UV 366 nm	Flavonoide, Kohlenhydrate, Anthocyanine, Pflanzensäuren
Ninhydrin	0.6 g Ninhydrin werden im 190 mL Isopropanol gelöst, 10 mL Essigsäure werden hinzugefügt. Die Farben, die durch das Ninhydrinreagenz erzeugt werden, können sich durch Konzentration, Lösungsmittel und Zusätze wie Collidin, Kupfersulfat oder Kobaltnitrat ändern.	Weisslicht	Aminosäuren, biogene Amine, Ephedrin
Phosphormolybdänsäure (Molybdato-phosphorsäure)	10 g Phosphormolybdänsäure werden in 50 mL Ethanol gelöst. Die Platte wird besprüht und getrocknet. Die Farbe der Zonen kann durch Ammoniakdampf verbessert werden.	Weisslicht	Fette Öle, Phospholipide, reduzierende Substanzen, Steroide, etherische Ölkomponenten, Morphin
Schwefelsäure	20 mL Schwefelsäure werden vorsichtig zu 180 mL eiskaltem Methanol hinzugefügt. Die Platte wird 1s ins Reagenz eingetaucht, dann bei 100 °C für 5 min erhitzt.	Weisslicht, UV 366 nm	Allgemeines Reagenz
Vanillin-anorganische Säure	Verschiedene Konzentrationen werden verwendet, gemischt mit Essigsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, oder Schwefelsäure. Die Platte wird besprüht, dann bei 100 °C für 5 min erhitzt.	Weisslicht, UV 366 nm	Terpene, Sterole, Salicin, Ergot-Alkaloide, meiste lipophile Substanzen

Mehr über Derivatisierung findet man in den folgenden Büchern:

Jork H., Funk W., Fischer W., Wimmer H.: Dünnschicht-Chromatographie, Physikalische und chemische Nachweismethoden, Band 1a and 1b, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1989 und 1992

Wagner H., Blatt S.: Plant Drug Analysis, A Thin-Layer Chromatography Atlas, 2nd Edition, Springer, Berlin, 1995

Stahl E.: Dünnschicht-Chromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch, 2. Auflage, Springer, Berlin, 1967



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

by incubation at 30 °C over night and spraying with MTT-tetrazolium salt reagent followed by incubation at 30 °C for 5-30 min. Visual evaluation.

Pharmaceutical research, environmental, AMD, qualitative identification, antibiotics, waste water, *Bacillus subtilis*, Chrom Biodip, bio-autography 28a, 37

- 93 082 M. WERTHER* (*Institut für Tierarzneimittel GmbH, Berliner Allee 317-321, D-13088 Berlin, Germany, margit.werther @camag-berlin.de): Validated procedure for determination of Monensin-Na in animal feed. CBS **89**, 10-11 (2002). HPTLC on silica gel with 1) ethyl acetate - chloroform 1:1 over 30 mm followed by drying at room temperature for 15 min and 2) ethyl acetate - chloroform 9:1 over 50 mm in horizontal development chamber. Detection by dipping in anisaldehyde - sulfuric acid reagent followed by heating at 60 °C for 5 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 440 nm. Precision (n=6 at 100 mg/kg feed) is found to be 2.7 %.
- Food analysis, quality control, densitometry, quantitative analysis, monensin-Na, feed additives 28a

- 93 077 SH. HEIDARI* (*Institute of Standards and Industrial Research of Iran, P.O. Box 31585-163, Industrial City, Karaj, Iran): Detection of aflatoxins in pistachios. CBS **84**, 9 (2000). HPTLC of aflatoxins on silica gel with chloroform - acetone 9:1. Quantitative determination by fluorescence measurement at 366/>400 nm.
- Food analysis, quality control, AMD, quantitative analysis 28b

- 93 078 J. SKARKOVA*, V. OSTRY, J. RUPRICH (*National Institute of Public Health, Prague, Palacko 1-3, 61242 Brno, Czech Republic, skarkova@chpr.szu.cz): Application of planar chromatography for determination of mycotoxins in the Czech Republic. CBS **87**, 1-3 (2001). HPTLC of aflatoxins, ochratoxin A, patulin, deoxynivalenol, fumonisins, sterigmatocystin, cyclopiazonic acid, and altenuene on silica gel with various mobile phases. Detection by spraying with aluminum chloride or 4-methoxybenzaldehyde. Quantitative determination by fluorescence or absorbance measurement at various wavelengths.
- Food analysis, agricultural, quality control, densitometry 28b

29. Insecticides, pesticides and other agrochemicals

- 93 083 P. P. BERNY*, J. SYNARDET, D. VEY, (*Toxicology Laboratory of the Ecole Nationale Veterinaire de Lyon ENVL, 1, Avenue Bourgelat, BP 83, F- 69280 Marcy L' Etoile, France): Planar chromatography in veterinary toxicology. Analysis of choline esterase inhibitors. CBS **83**, 4-5 (1999). HPTLC-AMD of choline esterase inhibitors on silica gel with a 15-step gradient from methanol via dichloromethane to hexane. Detection by spraying with butyryl choline esterase solution followed by incubation at 37 °C for 30 min, and spraying with fast blue salt mixed with alpha-naphthyl acetate followed by incubation at 37 °C for 5 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 254 nm.
- Toxicology, AMD, quantitative analysis, densitometry, choline esterase inhibitors, aldicarb, methomyl 29, 32d
- 93 084 M. BEAUFOUR*, J.-C. CHERTON, A. CARLIN-SINCLAIR (*Laboratoire Sircob, Bat. Lavoisier, 45 Avenue des Etats-Unis, F-78035 Versailles Cedex, France. beaufour@chimie.uvsq.fr): Monitoring of proinsecticides (oxazolines) in biological samples. CBS **90**, 12-13 (2003). TLC of oxazoline Ia on aluminum sheets RP-18 with methanol over 10 mm, followed by water - acetonitrile 1:1 over 55 mm. Ion pair chromatography of oxazoline Ia with phosphate buffer -

acetonitrile 1:1 over 60 mm after dipping in 2 mM cetyltrimethylammonium bromide. TLC of oxazoline Ib and Ic with phosphate buffer - acetonitrile - dioxane 4:3:3 over 65 mm. Determination by absorbance measurement at 200 nm (oxazoline Ia and Ib) and 262 nm (oxazoline Ic) respectively.

Agricultural, densitometry, quantitative analysis, qualitative identification, comparison of methods, oxazolines, proinsecticides 29f, 8b, 23e

93 006 W. KREISS et al., see section 3e

30. Synthetic and natural dyes

93 085 J.A. THAKARDA*, D. SHAH, M. TRIVEDI, B. BHAVSAR (*Dintex Dyechem Research Centre, Ahmedabad, Gujarat, India): Qualitative and quantitative analysis of impurities in MAMASA using HPTLC. CBS **86**, 4-5 (2001). HPTLC of 3-methoxy-4-amino azo meta sulphonic acid (MAMASA) on silica gel with n-butanol - diethylamine - ammonia - methanol 9:5:5:2 with chamber saturation for 5 min followed by drying at 40 °C. Quantitative determination by absorbance measurement at 254 nm.

Densitometry, quantitative analysis, azobenzenes, textile dyes, MAMASA, banned amines 30a, 11a

93 086 M. WERTHER (*Institut für Tierarzneimittel GmbH, Berliner Allee 317-321, D-13088 Berlin, Germany, margit.werther@camag-berlin.de): Identification of water-soluble food colors. CBS **88**, 7 (2002). HPTLC of E 110 Yellow orange S, E 104 Quinoline yellow, E 124 Cochineal red, E 132 Indigotine I, E 151 Brilliant black BN on RP-18 W with methanol - 5 % aqueous sodium sulfate solution 3:4. Identification based on R_f-values, documentation under white light.

Food analysis, qualitative identification, food colors 30a

93 008 D. JÄNCHEN* (Ed.), see section 4d

93 055 W. XIA (Xia Wei) et al., see section 15a

32. Pharmaceutical and biomedical applications

93 087 M. BAKAVOLI*, M. KAYKHAI, (*Dept. of Chem., Fac. of Sci., Ferdowsi Univ., Mashad, 91779, Iran. mbakavoli@yahoo.com): Quantitative determination of diazepam, nitrazepam and flunitrazepam in tablets using thin-layer chromatography-densitometry technique. J. Pharmaceut. Biomed. Analysis **31**, 1185-1189 (2003). TLC on silica gel with chloroform - acetone 9:1 in an unsaturated chamber. Quantitation by densitometry at 254 nm. Comparison of TLC method with reversed phase HPLC analysis.

Diazepam, nitrazepam, flunitrazepam 32a

93 109 D. JÄNCHEN* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland, dieter.jaenchen@camag.com): Process control by HPTLC - a case study. CBS **84**, 12-13 (2000). HPTLC of synthesis product SR 94163 and impurities SR 94 145 and SR 94454. Quantitative determination at 210 nm. Recovery rate for impurities is 98-114 %. For routine analysis in process control the

HPLC method was substituted by the faster HPTLC method.

Pharmaceutical research, densitometry, quantitative analysis, process control 32a

93 001 D. JÄNCHEN* (Ed.), see section 2a

93 110 H. JEHL*, I. MESAROS, S. SIGGERT, B. WOCHNER, D. KLEIBER, N. SINNER (*Quality Control Non-Sterile Products, Altana Pharma AG, Byk-Gulden-Str. 2, D-78467 Konstanz, Germany, Harald.jehle@altanapharma.com): Content uniformity test of cinchocaine hydrochloride. CBS **92**, 1-3 (2004). HPTLC of cinchocaine hydrochloride from suppositories on silica gel with 1-butanol - toluene - ethanol - water - 100 % acetic acid 10:8:7:4:1 over 30 mm followed by heating at 110 °C for 10 min. Quantitative determination by fluorescence measurement at 313/>400 nm. Precision is 2 % and recovery 101 %.

Quality control, cinchocaine hydrochloride 32a, 23e

93 122 N. MAHADEVAN*, M.M. HIPOLITH VIJI, T. SUBBURAJU, B. SURESH (*Dept. of Pharmacognosy, J.S.S. College of Pharmacy, Ootacamund – 643 001, India): Estimation of berberine in herbal extract and poly herbal formulations by HPTLC. Indian Drugs **41**(1), 46-47, (2004). HPTLC on silica gel plates with n-propanol - formic acid - water 90:1:9. Rf of berberine was 0.39. Quantification by densitometry at 348 nm via linear regression in the range of 40-220 ng. Limit of quantification and limit of detection were found to be 30 ng and 10 ng, respectively. The herbal extract was found to contain 0.402 % w/w of berberine. The percentage of berberine in formulations I, II, III and IV were 0.0886 %, 0.0123 %, 0.0283 % and 0.0091 % w/w, respectively. The standardized method was found to be reproducible, accurate, precise and selective.

Pharmaceutical research, quality control, qualitative identification, densitometry, postchromatographic derivatization 32a

93 127 K. R. MAHADIK *, H. AGGARWAL, N. KAUL (*Department of quality Assurance Technique, Bharati Vidyapeeth Deemed University, Poona College of Pharmacy, Erandwane, Pune – 411038, India): Simultaneous HPTLC estimation of amlodipine besylate and losartan potassium in tablet dosage form. Indian drugs **41** (1), 32-35, (2004). HPTLC on silica gel 60 F254 aluminium foil with toluene - methanol - chloroform 4:5:11 with chamber saturation for 30 min at room temperature. Rf of amlodipine besylate and losartan potassium was found to be 0.14 and 0.32, respectively. Quantification by densitometry at 245 nm via linear regression for amlodipine besylate between 0.05 to 0.10 µg and for losartan potassium between 0.5 to 1 µg. Validation regarding to accuracy and precision was performed. The limit of detection and limit of quantification for amlodipine besylate was found to be 0.01 and 0.03 ng/µL - for losartan potassium it was 0.004 and 0.013 ng/µL. The average recovery was determined to be 101.15 % for amlodipine besylate and 100.74% for losartan potassium.

Pharmaceutical research, quality control, densitometry, qualitative identification comparison of methods 32a

93 126 A. PACI* (*Dept. of Clinical Pharm., Inst. Gustave Roussy, 39 Rue Camille Desmoulins, F-94805 Villejuif Cedex, France. apaci@igr.fr): HPTLC applied to the post-production quality assurance of platinum infusion solutions. CBS **86**, 7 (2001). HPTLC on silica gel in horizontal development chamber with acetone – water 9:1 with chamber saturation for 15 min. Detection by dipping 1 s in 0.02 % 4-nitrosodimethylaniline in ethanol with 0.01 N HCl (adjusted at pH 2) followed by heating at 150 °C. Quantitative determination by absorbance measurement at 495 nm.

Pharmaceutical research, clinical routine analysis, quality control, densitometry 32a

93 129 E. REICH* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland): HPTLC

applied to the post-production quality assurance of etoposide infusion solutions. CBS **86**, 6 (2001). HPTLC of etoposide solution (in 5% dextrose or 0.9% NaCl) on silica gel in horizontal development chamber in sandwich configuration with diethyl ether – dichloromethane – methanol 24:20:1. Quantitative determination by absorbance measurement at 290 nm.

Pharmaceutical research, clinical routine analysis, quality control, densitometry 32a

- 93 133 SAPNA SHRIKUMAR*, S. SANDEEP, T. K. RAVI, M. UMAMAHESWARI (*Department of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Shri Ramkrishna Institute of Paramedical Sciences, Coimbatore – 641 004, India): A HPTLC determination and fingerprinting of bacoside A in *Bacopa monnieri* and its formulation. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences **66** (1), 132-135, (2004). HPTLC of bacoside A in *Bacopa monnieri* and in its commercial monoherbal capsule formulation on silica gel 60 F254 aluminium sheet, 20 x 10 cm, with chloroform – methanol – water 30:15:1. Quantification by densitometry at 540 nm via linear regression in the range of 30–180 µg/mL. Rf of Bacoside A was found to be 0.51. Validation regarding to accuracy, precision, specificity and recovery (97.4–100.1%). The proposed simple and sensitive method provides faster and cost effective qualitative control for routine analysis of bacoside A in formulations containing *Bacopa monnieri* saponins.

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

32a

- 93 141 L. VICARD*, L. CHÉRUZEL (*Hoechst Marion Roussel, Neuville-sur-Saône, France): Process monitoring by example of an esterification reaction. CBS **83**, 14-15 (1999). HPTLC of a mixture of the reaction product and its educts on cyano phase with cyclohexane - ethyl acetate - acetic acid 400:100:1 over 40 mm. Quantitative determination by absorbance measurement at 233 nm.

Densitometry, quantitative analysis, process monitoring, fine chemicals, synthesis parameters

32a, 35

- 93 144 M. WERTHER* (*Institut für Tierarzneimittel GmbH, Berliner Allee 317-321, D-13088 Berlin, Germany, margit.werther@camag-berlin.de): Determination of sulfadimidine-Na in cow and pig. CBS **87**, 4-5 (2001). HPTLC on silica gel with ethyl acetate - chloroform - methanol 6:4:1. Detection by dipping in fluorescamine solution. Quantitative determination by fluorescence measurement at 365/>400 nm.

Pharmaceutical research, quantitative analysis, densitometry, sulfadimidine-Na 32a

- 93 091 S. CAI (Cai Songtao), H. OUYANG (Ouyang Huifang), J. LUO (Luo Jie) (Guangzhou Baiyunshan TCM Factory, Guanzhou 510510, P. R. China): (Study of the quality standard of Ganmaoling tablets.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (12), 964-967 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - acetone - formic acid - water 54:14:8:6:1, 2) toluene (saturated with water) - ethyl acetate - formic acid 5:4:1, 3) cyclo hexane - ethyl acetate 5:1. Detection 1) by iodine vapor, 2) under UV 365 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of acetaminophen and chlorogenic acid by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, quantitative analysis, qualitative identification, acetaminophen, chlorphenamine maleate, caffeine, chlorogenic acid

32c, 4d

- 93 093 L. CHEN (Chen Lihua), SH. OUYANG (Ouyang Sheng), Y. MAO (Mao You Chang) (Jianxi Coll. TCM, Nanchang, Jiangxi 330006, P. R. China): (Determination of andrographolide

in Qianxi capsules by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (12), 1017-1019 (2004). TLC on silica gel developed with chloroform - ethyl acetate - methanol 20:15:2 at a temperature lower than 28 °C. Detection under UV 254 nm, or by spraying with 2 % 3,5-dinitrobenzoic acid in ethanol - 2 M KOH 1:1. Identification by standard comparison. Quantitative determination by densitometry at 263 nm. Validation of the method by investigation of its linearity range, precision, repeatability, reproducibility, and recovery. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
densitometry, quantitative analysis

32c

- 93 095 X. CHENG (Cheng Xiumin)*, J. REN (Ren Jian), Y. GAO (Gao Yanhui) (*Pharm. Coll., Shandong Univ., Jinan, Shandong 250012, P. R. China): (An improved method for quick identification of occident ginsengs by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (8), 665-666 (2004). TLC on silica gel with chloroform - acetone - formic acid 10:5:2. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 80 °C, 2) under UV 365 nm, 3) daylight, and 4) by densitometry at 543 nm. Identification by fingerprint techniques. Running the procedure for 16 ginsengs cultivated in different regions.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
qualitative identification, ginsengs

32c

- 93 097 X. CUI (CUI XIUJUN)*, L. CHENG (CHENG LIFANG) (*Jinan Municip. Hygienical Station for Women & Children, Jinan, Shandong 250001, P. R. China): (Determination of ligustilide in Chanshukang capsules by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (1), 73-74 (2004). TLC on silica gel with petroleum ether - ethyl acetate 19:1. Detection under UV 365 nm. Identification by standard comparison. Quantification of ligustilide by densitometry at 290 nm. Validation of the method by investigation of its precision (RSD 2.4 % n=5 within plate and 3.0 % n=5 plate-to-plate), reproducibility (2.5 % n=6 within three hours), and recovery (96.7 %, RSD 2.2 % n=5).

Pharmaceutical research, quality control, quantitative analysis,
densitometry, ligustilide

32c

- 93 099 U. DEMME*, R. WERNER, CH. ARNDT (*Hospital of the Friedrich-Schiller University of Jena, Institute for Forensics, Fürstengraben 23, D-07743 Jena, Germany): Improved separation of benzodiazepines by AMD. *CBS* **91**, 5-7 (2003). HPTLC-AMD of benzodiazepines from serum on lichrospher silica gel with a 9-step gradient based on methanol and diisopropyl ether over 80 mm. Densitometric evaluation by absorbance measurement at 230 and 320 nm followed by spectra recording from 200 to 330 nm.

Pharmaceutical research, toxicology, clinical routine analysis, AMD

32c

- 93 101 L. DONG (Dong Lin)*, Y. LI (Li Yi), X. DENG (Deng Xiaohong) (*Sichuan Prov. Inst. Drug Cont., Chengdu, Sichuan 610036, P. R. China): (Study of the quality standard for Yinchai granules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (1), 29-32 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - ethyl acetate - methanol - water 15:40:22: 10, 2) chloroform - methanol - water 13:7:2. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C, 2) under UV light. Identification by fingerprint technique. Quantification of chlorogenic acid by HPLC.

Pharmaceutical research, herbal, quantitative analysis, densitometry,
chlorogenic acid

32c, 4d

- 93 102 ZH. DU (Du Zhiqian), G. LI (Li Genlin) (Luoyang Osteopathy Hosp., Luoyang Henan 471002, P. R. China): (Determination of tetrahydropalmatine in Gupi plaster.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.*, (Zhongchengyao) **10**, 862-864 (2004). TLC on silica gel with cyclo hexane - chloroform - water 65:35:2. Detection by iodine vapor and under UV 254 nm. Identification by standard comparison. Quantitative determination by densitometry at 254 nm. Validation of the procedure by investigation of its linearity range, interference with impurities, precision, reproducibility and recovery. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.
Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, densitometry, quantitative analysis 32c
- 93 104 Y. GU (Gu Ying)*, Y. GUO (Guo Yubao), H. WANG (Wang Huahong), Y. ZHANG (Zhang Ye) (*Shanxi Acad. TCM, Xi'an, Sahnxi 710003, P. R. China): (Study of the quality control of Shuangxin granules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.* (Zhongchengyao) **25** (9), 711-715 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - butanone - formic acid - water 5:3:1:1, 2) chloroform - methanol - formic acid 200:25:50:1, 3) petroleum ether - diethyl ether 2:1, 4) chloroform - methanol - acetone - glacial acetic acid 30:1:2:3, 5) ethyl acetate - formic acid - glacial acetic acid - water 15:1:1:2. Detection 1) by spraying with 1 % FeCl₃ in ethanol, 2) spraying with 5 % vanillin - H₂SO₄ solution and heating, 3) under UV 365 nm, 4) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C. Identification by fingerprint techniques. Quantification of baicalin by HPLC.
Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, qualitative identification, quantitative analysis, baicalin 32c
- 93 107 G. HAN (Han Guiru)*, R LIU (Liu Renliu) (*Hebei Prov. Inst. Drug Cont., Shijiazhuang, Hebei 050011, P. R. China): (Study of the quality standard of Xiaoerhuichun pills.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.* (Zhongchengyao) **25** (9), 715 -718 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - butanone - formic acid - water 5:3:1:1, 2) benzene - ethyl acetate - methanol - isopropanol - conc. ammonia 12:6:3:3:1, 3) chloroform - acetone 19:1, 4) n-butanol - glacial acetic acid - water 7:1:2. Detection 1) by spraying with 5 % FeCl₃ in ethanol, 2) spraying with 5 % vanillin - H₂SO₄ solution and heating at 100 °C for 10 min, 3) under UV 365 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantification of berberine hydrochloride by densitometry at 340 nm.
Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, quantitative analysis, qualitative identification 32c
- 93 108 N. HUANG (Huang Nojia), W. YANG (Yang Wenhong), SH. XIAO (Xiao Shurong) (Shantou Municip. Inst. Drug Cont., Shantou, Guangdong 515041, P. R. China): (Study of the quality standard of Jiujixingjunsan powder.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med.* (Zhongchengyao) **11**, 874-877 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - butanone - formic acid - water 5:3:1:1, 2) 2-fold development with ethyl acetate - methanol - water 100:17:13 and toluene - ethyl acetate - formic acid - water 20:10:1:1, 3) chloroform - ethyl acetate - methanol - formic acid 200:25:50:1. Detection 1) by spraying with 1 % FeCl₃ in ethanol, 2) by spraying with 3 % AlCl₃ in ethanol and under UV 365 nm, 3) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of mentholum, borneolum syntheticum by GC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.
Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, qualitative identification, mentholum, borneolum syntheticum 32c, 4d
- 93 114 DE LI (Li Dexun)* (*Zahotong Inst. Drug Cont., Zhaotong, Yunnan 657000, P. R. China): (Quick identification of Zhuabggu Guanjie pills by thin-layer chromatography.) (Chinese). *J. Chinese*

Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (8), 682-682 (2004). TLC of icanine and naringoside on silica gel with ethyl acetate - butanone - methanol - water 10:6:3:1. Detection by spraying with 5 % AlCl₃ in ethanol and heating at 105 °C for 5 min, and under UV 365 nm. Identification by standard comparison.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
qualitative identification, icanine, naringoside

32c

- 93 115 SH. LI (Li Shouzhuo)*, H. PAN (Pan Haifeng) (*Inst. TCM, Chengde Coll. Med., Chengde, Hebei 067000, P. R. China): (Determination of psoralen and isopsoralen in Longbishu capsules by thin-layer chromatography.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (8), 627-629 (2004). TLC on silica gel 2-fold with petroleum ether - ethyl acetate 9:1. Detection 1) under UV 254 nm. Identification by comparison with the standards. Quantitation by densitometry at 300 nm. Validation of the procedure by investigation of its precision, specificity, repeatability, reproducibility, recovery, etc.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
densitometry quantitative analysis

32c

- 93 116 X. LI (L Xiaoyan)*, SH. ZHAO (Zhao Shaohua), X. LU (Lu Xiuli), ZH. LI (Li Zhengjie) (*Hebei Yiling Acad. Med. & Pharm., Shijiazhuang, Hebei 050035, P. R. China): (An improved procedure for the determination of matrine in Chinese traditional herbal drugs and preparations.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **26** (2), 172-173 (2004). TLC on silica gel with 1) benzene - acetone - ethyl acetate - conc. ammonia 10:15:20:2. Detection by spraying with 5 % potassium iodobismuthate solution. Identification by comparison with the standard. Quantification by densitometry at 524 nm. The procedure is validated by investigation of its repeatability, reproducibility, and recovery. Discussion of the merits of the procedure compared to that in China Pharmacopeia (2000 ed).

Pharmaceutical research, quality control, qualitative identification,
densitometry, matrine

32c

- 93 118 G. LIN (Lin Guitao)*, CH. MA (Ma Chengyan), L. ZHAO (Zhao Junling) (*Shandong Univ. TCM, Jinan, Shandong 250014, P. R. China): (Study of the quality standard for Shexiangtongbi Babu plaster.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **26** (2), 100-102 (2004). TLC on silica gel with 1) petroleum ether - ethyl acetate 17:3, 2) n-hexane - ethyl acetate 8:1, 3) petroleum ether - ethyl acetate 10:3, 4) chloroform - methanol 19:1, 5) n-hexane - ethyl acetate 9:1. Detection 1) by spraying with 5 % vanillin - H₂SO₄ solution and heating at 105 °C, 2) under UV 365 nm, 3) under daylight. Identification by fingerprint techniques. Quantification of muscone by GC.

Pharmaceutical research, quality control, qualitative identification, muscone 32c

- 93 119 X. LIU (Liu Xin)*, Y. LIN (Lin Yu), Y. CHEN (Chen Yun), J. YANG (Yang Junxuan), W. PENG (Peng Wanying) (*Chongqing Univ. Med., Chongqing, Sichuan 400016, P. R. China): (Determination of dl-tetrahydropalmatine in Chinese traditional patent medicines by thin-layer chromatography.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **26** (1), 19-23 (2004). TLC on silica gel in a basic developing system containing diethylamine. Detection by iodine vapour. Identification by standard comparison. Quantitative determination by densitometry at 340 nm. Validation of the method by investigation of the procedures, including sample preparation, mobile phase, visualization, scanning wavelength, linearity range (0.28-1.65 µg, r=0.9991), precision (RSD <1.4 % within plate and <2.4 % plate-to-plate), resolution, repeatability, reproducibility, and recovery (87.2 %-99.7 % for different medicine). Comparison of the results with those obtained by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, densitometry, quantitative analysis 32c, 4d
- 93 120 H LU (Lu Hua)*, J. XING (Xing Jianguo), T. WU (Wu Tao) (*Section Med., Taixing Hosp., Taixing, Jiangsu 225400, P. R. China): (Study of the quality standard of Shentaipikang pills.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (10), 798-801 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - butanone - formic acid - water 10:7:1:1; 2) benzene - acetone 10:1; 3) petroleum ether - ethyl formate - glacial acetic acid 18:1:1. Detection 1) under UV 365 nm, 2) by spraying with 5 % solution of vanillin - acetic acid - perchloric acid and heating at 105 °C, 3) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C. Identification by fingerprint techniques. Quantitation of icariine by HPLC.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, quantitative analysis, qualitative identification, icariine 32c, 4d
- 93 124 SH. MO (Mo Shaohong)*, X. LU (Lu Xiaojun), L. TAN (Tan Liujuan) (*Nanning Boke Pharm. Co., Ltd., Nanning 53002 1, P. R. China): (Study of the quality standard for Shuanghuo tincture.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (8), 619-622 (2004). TLC on silica gel with 1) petroleum ether - ethyl acetate 17:3; 2) chloroform - methanol - water 32:8:1; 3) chloroform - methanol 100:1; 4) chloroform - methanol - water 13:7:2. Detection 1) under UV 254 nm; 2) by spraying with 5 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C and under UV light; 3) by spraying with 10% H₂SO₄ in ethanol and heating at 110 °C. Identification by fingerprint technique. Quantitation of ginsenoside Rg by densitometry at 510 nm.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, densitometry, quantitative analysis 32c
- 93 135 J. TANG (Tan Jianning)*, G. LI (Li Guanqing), J. CHEN (Chen Jiaju) (*Guangxi Coll. TCM, Nanning, 530001, P. R. China): (Study of the quality control of Fushukang infusions.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (7), 543-546 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - methanol - formic acid - water 10:1:1:1; 2) petroleum ether - chloroform - ethyl acetate - conc. ammonia 80:15:5:1; 3) chloroform - ethyl acetate - methanol - formic acid 35:10:5:1; 4) chloroform - ethyl acetate - methanol - formic acid 70:8:20:3; 5) chloroform - methanol - water 13:6:2. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C; 2) under UV 254 nm; 3) by spraying with 5 % vanillin - H₂SO₄ solution and heating at 105 °C. Identification by fingerprint technique. Quantification of astragaloside by densitometry at 530 nm.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, densitometry, quantitative analysis 32c
- 93 136 D. TANG (Tang Daoquan)*, Q. LU (Lu Qian), J. WANG (Wang Jie) (*Dep. Pharm., Xuzhou Med. Coll., Xuzhou, Jiangsu 221002, P. R. China): (Study of the preparation of β-cyclodextrin inclusion compound of volatile oil from Fructus Amomi Rotundus.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (10), 785-787 (2004). Study of the optimum inclusion process conditions for volatile oil by using orthogonal design and determining the utilization ratio of volatile oil from Fructus Amomi Rotundus by TLC on silica gel with benzene - ethyl acetate 19:1 and detection by spraying with vanillin - H₂SO₄ solution. Establishment of the optimum conditions as volatile oil: β-cyclodextrin 1:8 at 50 °C for two hours, giving the utilization ratio of volatile oil of 70.7%.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, quantitative analysis, qualitative identification, β-cyclodextrin inclusion compound 32c
- 93 137 Q. TANG (Tang Qiling)*, Y. LIU (Liu Yongjun), D. CUI (Cui Dongmei) (*Yantai Yuhuangding Hosp, Yantai, Shandong 264000, P. R. China): (Determination of chlorogenic acid in Ganggan

granules by thin-layer chromatography.) (Chinese). Chinese J. Hosp. Pharm. (Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi) **24** (2), 86-87 (2004). TLC on silica gel with toluene - 70% ethanol - methanol 35:35:10:6. Detection under UV light. Identification by standard comparison. Quantification by densitometry at 310 nm.

Clinical chemistry research, quality control, densitometry,
quantitative analysis, chlorogenic acid

32c

- 93 138 H. TIAN (Tian Hong)*, Y. ZHANG (Zhang Yujie), H. HUANG (Huang Haixin) (*Henan Nanyang Inst. Drug Cont., Nayang, Henan, 473061, P. R. China): (Study of the quality standard for Yangyin Jiangtang tablets.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (7), 547-549 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - water 13:7:2 ; 2) chloroform - methanol - ethyl acetate - formic acid 20:8:4:1; 3) petroleum ether - ethyl acetate - formic acid 15:5:1; 4) chloroform - methanol - water 14:5:1. Detection 1) by spraying with 10% H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C; 2) by spraying with 5 % vanillin-H₂SO₄ solution and heating at 105 °C; 3) under UV 365 nm. Identification by fingerprint technique. Quantitation of puerin by HPLC.

Pharmaceutical research, quality control, traditional medicine,
quantitative analysis, qualitative identification, puerin

32c, 4d

- 93 140 H. TU (Tu Honghai)*, R. ZHAO (Zhao Ruhai), Y. WEI (Wei Youliang), C. WANG (Wang Caiyun) (*The Hosp. 68210 PLA, Baoji, Sahnxi 721001, P. R. China): (Study of the quality standard for Shengxue capsules.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (9), 708-711 (2004). TLC on silica gel with 1) n-hexane - ethyl acetate 9:1, 2) ethyl acetate - chloroform - methanol - formic acid - water 10:5:5:1:1, 3) chloroform - methanol - water 90:5:1. Detection 1) under UV 365 nm and by spraying with 20 % perchloric acid solution and heating at 105 °C, 2) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C for 10 min, 3) by ammonia vapor and under UV 254 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitation of astragaloside by densitometry at 530 nm. Discussion of use of the procedures for the quality control of the medicine.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
Densitometry, quantitative analysis

32c

- 93 143 Y. WANG (Wang Yuan)*, Y. WANG (Wang Yingfeng), G. REN (Ren Guifen) (*Dep. Chem., Capital Norm. Univ., Beijing 100037, P. R. China): (Study of in situ identification of thin-layer chromatography - Fourier Raman spectroscopy of yohimbine in Rauvolfia verticillata Bail.) (Chinese). Chinese J. Pharm. Anal. (Yaowu Fenxi Zazhi) **24** (1), 30-34 (2004). TLC on silica gel with chloroform - acetone - diethylamine 5:4:1. Detection under UV 254 nm. Identification by standard comparison. Use of silver gel as the surface enhanced subtract placed on the separated spots for measurement of FT-SERS. Investigation of the minimum detection amount for the compound, and the difference between the SERS and solid spectra.

Pharmaceutical research, quality control, qualitative identification, yohimbine,
TLC-Fourier Raman spectroscopy, FT-surface-enhanced Raman
spectroscopy (SERS)

32c, 4e

- 93 147 Y. XIA (Xia Yufeng), Q. YANG (Yang Qin), L. XIE (Xie Liqong), Q. WANG (Wang Qiang) (China Pharm. Univ., Nanjing 210038, P. R. China): (Study of the quality standard of Yupingfeng oral liquid). (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (12), 968-970 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - water 13:7: 2, 2) toluene - ethyl formate - formic acid 5:4:1, 3) n-hexane - benzene - ethyl acetate 14:3:3. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C for 5 min, 2) under UV 365 nm, 3) by iodine vapor. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of astragaloside by HPLC. TLC

is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, astragaloside 32c, 4d

- 93 148 H. XIE (Xie Hui), CH. MAO (Mao Chunqin), L. DI (Di Liuqing) (Nanjing Univ. TCM, Nanjing 210029, P. R. China): (Study of the quality standard of Huganbadu ointment.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **11**, 882-884 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - conc. ammonia 80:4:1, 2) benzene - ethyl acetate 20 :1, 3) chloroform - methanol - water 13:6:2, 4) ethyl acetate - formic acid - water 10:1:1. Detection 1) by spraying with 5 % solution of potassium iodobismuthate, 2) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C, 3) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol, heating at 105 °C and under UV 365 nm, or under 254 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of matrine by densitometry at 520 nm. Validation of the quantitative method by investigation of its linearity range, reproducibility, repeatability, recovery. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification 32c

- 93 149 Y. XIE (Xie Yumei)* (*Anhui Prov. Inst. Drug Cont., Hefei Anhui 230061, P. R. China): (Determination of cholic acid in Niu Huang Shedan Chuanbei capsules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (9), 771-773 (2004). TLC on silica gel with isooctane - dibutyl ether - glacial acetic acid 8:5:5. Detection by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C. Identification by standard comparison. Quantification of cholic acid by densitometry.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control, densitometry,
quantitative analysis 32c, 11a

- 93 150 ZH. XIE (Xie Zhimin)*, M. WANG (Wang Minchun), Y. Wang (Wang Yunxia), X. WANG (Wang Xinli) (*Xi'an Inst. Drug Cont., Xi'an, 710054, P. R. China): (Quick identification of snake bile in Shedan Chuanbeiye syrup.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (7), 583-584 (2004). TLC on silica gel with benzene - ethyl acetate - methanol - glacial acetic acid - water 16:10:8:4:3. Detection under daylight or UV light. Identification by fingerprint technique. TLC screening of many other animal's bile, such as duck bile, chicken bile, cow bile, sheep bile, pig bile and fish bile, etc. Discussion of the possibility of replacing snake bile with some other animal's bile containing similar components.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, snake bile 32c, 4d

- 93 151 F. XONG (Xong Fuliang)*, ZH. LI (Li Zhixiong), ZH. CAO (Cao Zhihua), Y. WANG (Wang Yongping) (*Hubei Eng. Tech. Center TCM, Wuhan, Hubei 430052, P. R. China): (Study of the quality standard for Puqinxiaoyan tablets.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (2), 103-105 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - methanol - formic acid 4:8:1, 2) petroleum ether - chloroform - conc. ammonia 2:8:1. Detection 1) under UV 365 nm. 2) by spraying with 5 % potassium iodobismuthate solution. Identification by fingerprint techniques. Quantification of baicalin by HPLC.

Pharmaceutical research, quality control, clinical routine analysis,
qualitative identification, baicalin 32c

- 93 152 L. XU (Xu Liting), H. XIE (Xie Hua), ZH. JIA (Jia Zhenping), B. LIU (Liu Baiou) (General Hosp., Lanzhou Command, PLA, Lanzhou 730050, P. R. China): (Study of the quality standard

of Tianqi capsules.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **10**, 807-809 (2004). TLC on silica gel plates with 1) chloroform - methanol - water 13:7:2, 2) chloroform - acetone - formic acid 25:10:4. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C, 2) by ammonia vapor and under UV 365 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of salidroside by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine.

Pharmaceutical research, quality control, traditional medicine,
quantitative analysis, qualitative identification, salidroside 32c, 4d

- 93 153 R. XU (Xu Renliu), G. HAN (Han Guiru), ZH. LIU (Liu Zhe), Y. SONG (Song Yanling) (Hebei Provin. Inst. Drug Cont., Shijiazhuang, Hebei 050011, P. R. China): (Study of the quality standard of Erxiaqingxin tablets.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **25** (12), 970-974 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - methanol - water 6:1:3, 2) n-butanol - glacial acetic acid - water 4:1:5, 3) chloroform - methanol - water 28:10:1. Detection 1) by spraying with 1 % AlCl₃ and under UV 365 nm, 2) by spraying with 0.5 % ninhydrin in ethanol and heating at 105 °C, 3) under UV 365 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of puerarin by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, puerarin 32c, 4d

- 93 154 A. YANG (Yang Andong)*, Y. MA (Ma Yan), SH. WU (Wu Shihui) (*Sichuan Prov. Inst. TCM, Chengdu, Sichuan 610041, P. R. China): (Study of the quality standard of Zangfukang suppository.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (1), 26-29 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - methanol - conc. ammonia 17:2:1, 2) cyclohexane - ethyl acetate - formic acid 30:15:1, or 50:10:1. Detection 1) by spraying with 5 % potassium iodobismuthate solution, 2) by spraying with 5 % vanillin in H₂SO₄ solution and heating at 105 °C, 3) under UV 254 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of puerarin by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, puerarin 32c, 4d

- 93 155 D. YANG (Yang Dongai)*, B. DAI (Dai Bin), C. QIU (Qiu Cuichang) (*Guangxi Inst. Minor Pharm. & Med., 530001, P. R. China): (Study of the identification of Huanhua Shudai Paocha.) (Chinese) *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (1), 74-76 (2004). TLC on silica gel with 1) petroleum ether - ethyl acetate - formic acid 30:10:1, 2) petroleum ether - ethyl acetate 25:1, 3) chloroform - methanol - water 13:7:2. Detection 1) under 365 nm, 2) by spraying with 1 % vanillin - H₂SO₄ solution, 3) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol. Identification by fingerprint techniques, combined with microscopy of the microcosmic configuration and shape of the medicine, and with visualization by color reaction of anthracene and quinine with 1 % NaOH solution. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research, quality control, traditional medicine,
qualitative identification, anthracene, quinine 32c

- 93 156 M. YANG (Yang Ming)*, ZH. LI (Li Zhi), D. WU (Wu Dazhang), Y. YANG (Yang Rongping), F. WANG (Wang Fei) (*Chengdu Univ. TCM, Chengdu, Sichuan 610075, P. R. China): (Study of the quality standard of Yanqingsong pills.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (1), 23-26 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - water 28:10:1, 2) n-hexane - ethyl acetate 9:1, 3) chloroform - methanol 5:1, 4) petroleum ether - diethyl ether 1:

1. Detection 1) under UV 365 nm, 2) by spraying with 5 % vanillin in H₂SO₄ solution. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of puerarin by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, puerarin 32c, 4d
- 93 157 X. YANG (Yang Xixiao)*, B. ZHU (Zhu Binghui), J. FANG (Fang Jihui), D GUO (Guo Dan), CH. WANG (Wang Chunxia), X. CAO (Cao Xixing), L. HOU (Hou Lianbing) (*Pharm. Sec., Nanfang Hosp., The 1st Milit. Med Univ., Guangzhou, Guangdong 510515, P. R. China): (Study of the quality standard of Changtong oral liquid.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (9), 719-720 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - water 13:7:2, 2) chloroform - acetone - formic acid 10:5:2, 3) petroleum ether - ethyl formate - formic acid 15:5:1. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating and under UV 365 nm, 2) by ammonia vapor and under UV 365 nm. Identification by fingerprint techniques. Quantitation of danshensu by HPLC. Discussion of use of the procedures for the quality control of the medicine.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, danshensu 32c
- 93 158 X. YANG (Yang Xixong), CH. YANG (Yang Chengxong), L. FU (Fu Lianqun), J. LU (Lu Jinqing) (Jingmen Hosp. No.2, Jingmen, Hubei 448000, P. R. China): (Study of the quality standard of Chongcaoyangshen capsules.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **10**, 858-860 (2004). TLC on silica gel with 1) chloroform - methanol - water 13:7:2, 2) isopropanol - ethyl acetate - water 17:9:9, n-butanol - formic acid - water 15:3:2. Detection 1) by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 110 °C, 2) by spraying with 0.3 % ninhydrin in n-butanol, 3) by spraying with 10 % vanillin solution. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of ginsenoside by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, ginsenoside rb 32c, 4d
- 93 058 Y. YANG (Yang Yun) et al., see section 17a
- 93 161 X. ZHAI (Zhai Xufeng)*, F. LIU (Liu Fajin), Y. GUO (Guo Yongzhuang), C. LIAO (Liao Caizhen) (*Guangdong Yifang Pharm. Co., Ltd., Nanhai, Guangdong 528244, P. R. China): (Determination of astragaloside IV in extract of Radix Astragali by thin-layer chromatography.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (8), 651-653 (2004). TLC on silica gel with n-butanol - ethyl acetate - ammonia 10% 4:1:5. Detection by spraying with 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C for 5-7 min. Identification by standard comparison. Quantification by densitometry at 530 nm. Validation of the procedure by investigation of its precision, specificity, repeatability, reproducibility, recovery, etc. Determination of the title compound in the extracts from five batches of the drug.
- Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
quantitative analysis, qualitative identification 32c
- 93 163 CH. ZHAO (Zhao Chunxiang)*, G. ZHANG (Zhang Guijie), L. ZHANG (Zhang Li), L. XU (Xu Liangyan) (*Jilin Prov. Inst. Drug Cont., Cahngchun, Jilin 130062, P. R. China): (Study of the identification of Shenronglutai pills by thin-layer chromatography.) (Chinese). J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao) **25** (8), 680-682 (2004). TLC on silica gel with 1) ethyl acetate - formic acid - water - methanol 35:10:15:2; 2) benzene - ethyl acetate 19:1; 3) chloroform -

ethyl acetate - methanol - water; 4) petroleum ether; 5) petroleum ether - ethyl acetate 17:3; 6) chloroform - methanol - water 13:7:2; 7) ethyl acetate - formic acid - water 10:2:3. Detection 1) under daylight, 2) by spraying with 5 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C, 3) by spraying with 5 % p-dimethylaminobenzaldehyde in 10 % H₂SO₄ in ethanol and heating at 105 °C, 4) by spraying with 2 % 2,4-dinitrophenylhydrazine in ethanol, 5) by spraying with 1 % vanillin - H₂SO₄ solution, 6) by spraying with 5 % FeCl₃ in ethanol, 7) by spraying with 2 % AlCl₃ in ethanol and under UV 365 nm, 8) under UV light. Identification by fingerprint techniques.

Pharmaceutical research, traditional medicine, quality control,
qualitative identification, ginsengs

32c

- 93 164 Y. ZHENG (Zheng Yi)* (*Pingshan Pharm. Factory, Fuzhou, Fujian 350003, P. R. China): (Study of the quality standard of Ganmaoyankeling tablets.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **11**, 885-887 (2004). TLC on silica gel with 1) n-butanol - 3 M NH₄OH - ethanol 5:2:1, 2) toluene - ethyl acetate - formic acid 5:4:1. Detection 1) under UV 254 nm, 2) by spraying with 10 % FeCl₃ in ethanol. Identification by fingerprint techniques. Quantitative determination of quercetin by HPLC. TLC is widely applied in the quality control for Chinese traditional medicine, both medicinal herbal drugs and their preparations.

Pharmaceutical research traditional medicine quality control,
quantitative analysis, qualitative identification, quercetin

32c, 4d

- 93 083 P. P. BERNY et al., see section 29

- 93 145 M. WERTHER*, B. MUELLER, A. STREY (*Institut für Tierarzneimittel GmbH, Berliner Allee 317-321, D-13088 Berlin, Germany, margit.werther@camag-berlin.de): HPTLC - Method for quantitative determination of levamisol in tissue and organs of pigs. *CBS* **83**, 12-13 (1999). HPTLC of levamisol in pig tissue on silica gel with chloroform over a developing distance of 70 mm, then with chloroform - methanol - formic acid 400:50:1 over 50 mm. Quantitative determination by absorbance measurement at 220 nm. Limits of detection are 0.6 - 1.5 µg/kg.

Food analysis, quality control, quantitative analysis, densitometry,
levamisol, residue analysis, antihelmintic

32d

- 93 088 A. BLATTER* (*Department of Pharmaceutical Biology, University of Basel, CH-4056 Basel, Switzerland): HPTLC investigations on St. John's Wort. *CBS* **88**, 9-11 (2002). HPTLC of flavonoids, hypericin and pseudohypericin on silica gel and diol phases (for quantification of hypericin) respectively, with ethyl acetate - dichloromethane - formic acid - acetic acid - water 100:25:10:10:11. Detection by dipping the warm plate in modified natural products reagent (0.5% in ethyl acetate). Selective HPTLC of hyperforin on silica gel with toluene - dichloromethane 4:1. Visual detection by spraying with Godin reagent. Quantitative determination by absorbance measurement at 310 nm without derivatization.

Herbal, quality control, pharmaceutical research, quantitative analysis,
qualitative identification

32e

- 93 089 A. BLATTER*, E. REICH (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland): Quality control of *Stephania tetrandra*. *CBS* **92**, 13-15 (2004). HPTLC on silica gel with toluene - ethyl acetate - methanol - ammonia 25 % 10:10:50:3 over 70 mm with chamber saturation for 30 min. Detection by dipping in iodine solution (0.05 g in 10 mL ethanol 96 %). Visual evaluation under white light. Quantitative determination by absorbance measurement at 210 nm. Repeatability measuring 6 replicates of the same sample on one plate is between 1.6 % and 3.7 %, repeatability of the means from 3 different plates is 1.2 %.

Quality control, herbal, traditional medicine, quantitative analysis

32e

- 93 090 C. BODINET*, R. MENDEL, U. WEGNER, U. LINDEQUIST, E. TEUSCHER, J. FREUDENSTEIN (*Schaper & Brümmer GmbH & Co. KG, Bahnhofstr. 35, D-38259 Salzgitter, Germany): Effect of oral application of an immunomodulating plant extract on Influenza virus Type A infection in mice. *Planta med.* **68**, 896-900 (2002). TLC of cichoric acid, echinacoside, maackianin, and umbelliferone on silica gel with ethyl acetate - AcOH - acetic acid - water 100:11:11:27 and formic acid - ethyl formate - toluene 3:10:10. Detection after spraying with 1 % 2-aminophenyl diphenyl borate in methanol and 5 % PEG 400 in methanol under UV light at 366 nm.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification 32e
- 93 092 J. CHANG, L.-J. XUAN, Y.-M. XU, J.-S. ZHANG* (*Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institute of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, 294 Taiyuan Road, Shanghai 200031, P. R. China): Cytotoxic terpenoids and immunosuppressive phenolic glycosides from the root bark of *Dictamnus dasycarpus*. *Planta med.* **68**, 425-429 (2002). TLC of glycosides (dasycarpaside A, B, 2-methoxy-4-hydroxymethylphenol 1-O- α -rhamnopyranosyl-(1''-6')- β -glucopyranoside, 2-methoxy-4-acetylphenol 1-O- α -rhamnopyranosyl-(1''-6')- β -glucopyranoside, 2-methoxy-4-(8-hydroxyethyl)-phenol 1-O- α -rhamnopyranosyl-(1''-6')- β -glucopyranoside) on silica gel with benzene - formic acid - ethyl acetate 3:2:5. Detection by spraying with sulfuric acid - ethanol 1:4 reagent followed by heating. In addition acid hydrolysis on HPTLC silica gel plates with chloroform - methanol - water 10:4:3 and visualization by spraying with phenylamine-o-benzene dicarboxylic reagent followed by heating.
Pharmaceutical research, qualitative identification, *Dictamnus dasycarpus*, phenolic glycosides 32e
- 93 094 J.-J. CHEN, Y.-C. HUANG, Y.-C. CHEN, Y.-T. HUANG, S.-W. WANG, C.-Y. PENG, C.-M. TENG, I.-S. CHEN* (*School of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan, Republic of China): Cytotoxic amides from *Piper sintonense*. *Planta med.* **68**, 980-985 (2002). Preparative TLC of pipersintenamide, piperarboricoline, sintonpyridone, β -sitosterol, β -sitostenone, and stigmasta-4,22-diene-3-one on silica gel with n-hexane - ethyl acetate 10:1, dichloromethane, dichloromethane - ethyl acetate 10:1, 20:1 and 30:1, chloroform, chloroform - methanol 30:1, and chloroform - acetone 15: 1 and 20:1.
Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, *Piper sintonense* 32e, 13c, 17c
- 93 096 J. CRECHE* (*Plant Molecular Biology and Biochemistry Department, EA 2106, Plant Biocompounds and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, University of Tours, 31 avenue Monge, F-37200 Tours, France. creche@univ-tours.fr): Rapid analysis of indole alkaloids in tissue cultures. *CBS* **90**, 10-11 (2003). HPTLC of periwinkle cell samples on prewashed silica gel with ethyl acetate - diethylamide 9:1 in horizontal developing chamber over 25 mm. Detection by radiation with shortwave UV 254 nm. Quantitative determination by fluorescence measurement at 254 nm or 365 nm.
Pharmaceutical research, herbal, densitometry, quantitative analysis, ajmalicine, serpentine, vinca-alkaloids, cell culture 32e
- 93 103 N. F. DE MOURA, E. SIMIONATTO, C. PORTO, S. C. S. HOELZEL, E. C. S. DESSOY, N. ZANATTA, A. F. MORE L* (*Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Campus de Camobi, Santa Maria-RS, Brazil): Quinone alkaloids, coumarins and volatile constituents of *Helietta longifoliata*. *Planta med.* **68**, 631-634 (2002). Preparative TLC of helietidine, γ -fagarine, flindersine, kokusagenine, and maculosine on silica gel with chloroform - methanol 49:1. Detection by bioautography.
Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, *Helietta longifoliata* 32e, 22

- 93 098 M. DEL ROSARIO HERNÁNDEZ-MEDEL, R. PEREDA-MIRANDA* (*Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, Mexico City, Mexico): Cytotoxic anthraquinone derivatives from *Picramnia antidesma*. *Planta med.* **68**, 556-558 (2002). TLC of chrysophanol, emodin, uveoside, and picramnioside E on silica gel with chloroform - methanol 9:1.
Pharmaceutical research, qualitative identification, *Picramnia antidesma*, anthraquinone derivatives 32e
- 93 100 U. DOLD* (*Institute of Pharmacy, University of Basel, Switzerland): Screening of *Vitex agnus castus* extracts by HPTLC. *CBS* **86**, 13-15 (2001). HPTLC on silica gel (prewashed with methanol) with THF - toluene - formic acid - water 16:8: 2:1 for flavonoids and toluene - ethyl acetate 9:2 for diterpenes. Detection of flavonoids by dipping in natural products reagent followed by dipping in PEG 6000 solution. Detection of diterpenes by dipping in anisaldehyde reagent. Evaluation with video technology.
Pharmaceutical research, quality control, herbal, densitometry 32e
- 93 105 M. GUO (Guo Mei)*, Y. LI (Li Yingdong), J. SHAO (Shao Jing), X. SHI (Shi Xia), X. YU (Yu Xiaohui) (* Gansu Inst. TCM, Lanzhou, Gansu 730000, P. R. China): (Effect of different drying method on the quality of *Radix Angelicae Sinensis*.) (Chinese). *J. Chinese Trad. Patent Med. (Zhongchengyao)* **26** (1), 36-38 (2004). TLC of the extracts of the drug dried in different conditions (by fuming, sun-baking and airing) on silica gel with benzene - ethyl acetate - methanol 40:10:1. Detection by spraying with 2 % ferricyanide- 0.01 % FeCl₃ in 2 N HCl solution. Identification by fingerprint technique. Quantification of ferulic acid by HPLC. The results showed that fuming was the best among the three drying methods.
Pharmaceutical research, herbal, quantitative analysis, densitometry, ferulic acid 32e
- 93 106 E. HAHN-DEINSTROP*, A. KOCH (*Kleingeschaidter Str. 23, D-90542 Eckental, Germany. elke.hahn_deinstrop@arco r.de): Identification of true Saffron. *CBS* **91**, 9-11 (2003). HPTLC on silica gel with ethyl acetate - 2-propanol - water 13:5:2 over 65 mm with chamber saturation. Detection by spraying with anisaldehyde - sulfuric acid reagent, followed by heating at 110 °C for 5-10 min. Visual evaluation in white light and at 254 nm.
Food analysis, herbal, quality control, qualitative identification, saffron 32e
- 93 111 G. JÜRGENLIEMK, A. NAHRSTEDT*, (*Institute for Pharmacy, Biology and Phytochemistry, Westfälische Wilhelms-University of Münster, Hittorfstr. 56, 48149 Münster, Germany): Phenolic compounds from *Hypericum perforatum*. *Planta med.* **68**, 88-91 (2002). TLC of neochlorogenic acid, protocatechuic acid, 3-O-[Z]-p-coumaroylquinic acid, 3-O-[E]-p-coumaroylquinic acid, cryptochlorogenic acid, mangiferin, isoorientin, cyanidin-3-O-a-L-rhamnoside, rutin, hyperoside, isoquercitrin, miquelianin, astilbin, guaijaverin, quercitrin, quercetin, biapigenin, amantoflavone, pinocembrin-7-methyl ether, pseudohypericin, hyperforin, hypericin on silica gel with ethyl acetate - formic acid - water 30:2:3. Detection by derivatization with Naturstoff reagent.
Pharmaceutical research, quality control, qualitative identification, *hypericum perforatum*, phenolic compounds 32e
- 93 112 A. KOCH*, R. RICHTER, (*Frohme Apotheke, Frohmestrasse 14, D-22457 Hamburg, Germany, koch@frohme-apotheke.de): Analysis of constituents of devil's claw and determination of their bioactivity by HPTLC. *CBS* **89**, 4-7 (2002). HPTLC of devil's claw extract on lichrospher silica gel with ethyl acetate - ethanol (70 %) 7:3 over 70 mm with chamber saturation. Detection by dipping in anisaldehyde - sulfuric acid reagent followed by heating at 105 °C until colors develop. Determination of bioactivity with DPPH-biotest by spraying with 0.05 % solution of

- (2,2-di-(4-tert-octylphenol)-1-picrylhydrazyl in methanol. Determination of antibiotic properties with Merck Chrom Biodip test by dipping in bacteria solution and incubation at 26 °C for 20 h, followed by spraying with yellow MTT tetrazolium salt.
- Pharmaceutical research, quality control, traditional medicine, herbal 32e
- 93 113 S. LAVOINE*, J.-F. ARNAUDO, D. COUTIERE, (*Studio de Creation de Parfumerie, ZAC Font de l'Orme, BP411, F-06254 Mougins Cedex, France): HPTLC analysis of the major components in Vanilla bean extracts. CBS **81**, 14-15 (1998). HPTLC-AMD of extracts on silica gel with 16-step gradient based on methanol containing 0.1 % acetic acid via dichloromethane to n-hexane. Quantification by absorbance measurement at 255, 260, 290 and 310 nm (multi wavelength scan). Precision is determined to be 3%.
- Food analysis, quantitative analysis, densitometry, AMD, vanilla, vanillic acid, p-hydroxybenzoic acid, p-hydroxybenzaldehyde 32e
- 93 117 S.-H. LI, H.-J. ZHANG*, X.-M. NIU, P. YAO, H.-D. SUN, H. H. S. FONG* (*Program for Collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences, M/C 877, College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago, 833 S. Wood St., Chicago, IL 60612, USA): Taxuyunnanines S-V, new taxoids from *Taxus yunnanensis*. *Planta med.* **68**, 253-257 (2002). Preparative TLC of taxuyunnanine S on silica gel with i-propanol - chloroform 2:1. Visualization by spraying with 10 % sulfuric acid in ethanol.
- Pharmaceutical research, preparative TLC, *Taxus yunnanensis* 32e
- 93 123 E. MALDONADO JIMÉNEZ*, F. R. TORRES, M. MARTINEZ, A. L. PÉREZ-CASTORENA (*Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 D. F., México): 18-Acetoxywhitanolides from *Physalis chenopodifolia*. *Planta med.* **70**, 59-64 (2004). Analytical and preparative TLC of withasteroids (physachenolide E and D) on silica gel with n-hexane - acetone 6:5 by 8-fold development and chloroform - acetone 7:3 by 4-fold development. Detection under UV light and by spraying with cerium sulfate - sulfuric acid reagent.
- Pharmaceutical research, herbal, quality control, qualitative identification, preparative TLC, *Physalis chenopodifolia* 32e
- 93 125 T. MORIKAWA, H. MATSUDA, I. YAMAGUCHI, Y. PONGPIRIYADACHA, M. YOSHIKAWA*, (*Kyoto Pharmaceutical University, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607-8412, Japan): New amides and gastroprotective constituents from the fruit of *Piper chaba*. *Planta med.* **70**, 152-159 (2004). Analytical HPTLC on silica gel RP-18 and preparative TLC on silica gel of piperine, piperamine, piperlonguminine, and methyl piperate with n-hexane - ethyl acetate 1:1. Detection by spraying with 1 % cerium sulfate - 10 % aqueous sulfuric acid followed by heating on a plate heater.
- Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, qualitative identification, *Piper chaba* 32e
- 93 128 E. REICH* (Ed.) (*CAMAG, Sonnenmattstr. 11, CH-4132 Muttenz, Switzerland): Analysis of *Arctostaphylos Uva ursi* leaves. CBS **85**, 14-15 (2000). HPTLC on silica gel with ethyl acetate - formic acid - water 45:5:3. Detection by spraying with dichloroquinonechlorimide followed by spraying with 10 % aqueous sodium carbonate solution. Visual evaluation.
- Pharmaceutical research, quality control, herbal, qualitative identification, arbutin, hydroquinone 32e

- 93 130 J. RICHTER, K. KABRODT, I. SCHELLENBERG* (*Fachgruppe Bioanalytik, Hochschule Anhalt (FH), Strenzfelder Allee 28, D-06406 Bernburg, Germany, schellenberg@loel.hs-anhalt.de): Characterization of tannins from rhubarb by TLC/HPTLC. CBS **88**, 4-6 (2002). HPTLC of rhubarb extract on silica gel (prewashed with isopropanol) with acetone - water - formic acid 18:1:1 or toluene - acetone - formic acid 3:6:1 over 75 mm after partial chamber saturation. Detection by 1) dipping in a 1 % solution of vanillin in ethanol and heating at 50 °C for 5 min followed by exposing to HCl atmosphere, 2) spraying with iron (III) chloride 3 % in methanol, 3) spraying with 4-dimethylaminocinnamaldehyde 1 % in ethanol - HCl (37 %) 1:1, 4) spraying with natural products reagent 1 % in methanol. Documentation under white light and at 366 nm.
Quality control, herbal, qualitative identification, rhubarb, tannin 32e
- 93 131 S. ROENGSUMRAN*, K. MUSIKUL, A. PETSOM, T. VILAIVAN (*Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand): Croblongifolin, a new anticancer clerodane from *Croton oblongifolius*. *Planta med.* **68**, 274-277 (2002). TLC of croblongifolin, crovatin, and nidorellol on silica gel with n-hexane - ethyl acetate 9:1 and chloroform - methanol 19:1.
Pharmaceutical research, qualitative identification, *Croton oblongifolius*, croblongifolin, crovatin, nidorellol 32e
- 93 132 A. SCHMID* (*Institute of Pharmacy, University of Basel, Switzerland): HPTLC and videotechnology for stability tests of plant extracts. CBS **86**, 10-12 (2001). HPTLC of valerian root extracts on silica gel (prewashed with methanol) with chloroform - ethyl acetate - propanol 15:10:1. Detection by dipping for 1 s in 15 % sulfuric acid in methanol followed by heating at 120 °C for 10 min and cooling to room temperature. Evaluation with video technology (VideoStore/VideoScan).
Pharmaceutical research, quality control, herbal, densitometry 32e
- 93 134 A. SIEVERS, L. OSHINOWO, W. SCHULTZE*, A. KOCH, R. RICHTER (*Institut für Pharmazie, Abteilung Pharmazeutische Biologie und Mikrobiologie, Bundesstrasse 45, D-20146 Hamburg, Germany): Simple thin layer chromatographic test for antioxidative compounds using the DPPH assay. CBS **88**, 14-15 (2002). HPTLC of mushroom extracts on silica gel with dichloromethane - ethyl acetate - methanol 3:1:1 and HPTLC of hydroquinone, rutin, resorcinol, and ascorbic acid on silica gel with toluene - methanol - acetic acid 45:8:4 over 80 mm with chamber saturation. Determination of bioactivity with DPPH-biotest by spraying with 5 mg (2,2-di-(4-tert-octylphenol)-1-picrylhydrazyl) in 10 mL acetone.
Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, densitometry, bioautography, antioxidative compounds, DPPH assay 32e, 4e
- 93 139 I.-L. TSAI*, C.-H. HUNG, C.-Y. DUH, I.-S. SHEN (*School of Pharmacy, College of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan, Republic of China): Cytotoxic butanolides and secobutanolides from the stem wood of *Formosan Lindera communis*. *Planta med.* **68**, 142-145 (2002). Preparative TLC of lincomalide C, D, secolincomalide A, B, isoobtusilactone A, secoisolancifolide on silica gel with n-hexane - ethyl acetate 20:1, 6:1, 4:1, 3:1 and n-hexane - acetone 5:1. Visualization under UV light.
Pharmaceutical research, qualitative identification, preparative TLC, cytotoxic butanolides, secobutanolides, *Formosan Lindera communis* 32e
- 93 142 F. WAHLI* (*Department of Pharmaceutical Biology, University of Basel, CH-4056 Basel, Switzerland): Stability tests of *Vitex agnus castus* (chaste tree) extracts. CBS **91**, 12-13 (2003). HPTLC of flavonoids with tetrahydrofuran - toluene - formic acid - water 16:8:2:1, diterpenes

with toluene - ethyl acetate 9:2, and iridoids with ethyl acetate - methanol - water 77:15:8 (with chamber saturation), in horizontal developing chamber over 52 mm. Detection of flavonoids by dipping warm plate in natural products reagent (0.5 % in ethyl acetate) followed by dipping in PEG 400 solution (5 % in dichloromethane), of diterpenes by dipping in 10 % methanolic sulfuric acid followed by heating at 105 °C, and iridoids by dipping in 4-dimethylaminobenzaldehyde reagent (1 % in 1 N methanolic HCl). Visual evaluation at 366 nm (flavonoids), white light (diterpenes), and white light with sharp cut filter 560 nm (iridoids). Stability of extracts was investigated under drastic stress conditions (acid, base, light, heat, humidity).

Herbal, quality control, pharmaceutical research, qualitative identification 32e

- 93 146 V. WIDMER* (*Department of Pharmaceutical Biology, University of Basel, CH-4056 Basel, Switzerland): Analysis of flavone glycosides from hawthorn and passion flower. *CBS* **91**, 14-15 (2003). HPTLC of hawthorn extract on silica gel with ethyl acetate - methanol - water - formic acid 50:2:3:6, of passion flower extract on silica gel with tetrahydrofuran - toluene - formic acid - water 16:8:2:1, and of chrysin on RP-18 W phase with tetrahydrofuran - methanol - water - formic acid 4:6:14:1. Detection by dipping the warm plate in natural products reagent (0.5 % in ethyl acetate) followed by dipping in PEG 400 solution (5 % in dichloromethane). Visual evaluation at 366 nm.

Herbal, quality control, pharmaceutical research, qualitative identification 32e

- 93 159 C. YANG, Y.-P. SHI, Z.-J. JIA* (*Department of Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, P. R. China): Sesquiterpene lactone glycosides, endesmanolides, and other constituents from *Carpesium macrocephalum*. *Planta med.* **68**, 626-630 (2002). Preparative TLC of 2-a-O-β-D-glucopyranosyl-5aH-endesma-4(15),11(13)-dien-12,8β-olide on silica gel with dichloromethane - methanol 6:1 by 2-fold development.

Pharmaceutical research, herbal, preparative TLC, sesquiterpene lactone glycosides, endesmanolides, *Carpesium macrocephalum* 32e, 15a

- 93 160 J. YIN, K. KOUDA, Y. TEZUKA, Q. L. TRAN, T. MIYAHARA, Y. CHE, S. KADOTA* (*Department of Natural Products Chemistry, Institute of Natural Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama 9 30-0194, Japan): New diarylheptanoides from the rhizomes of *Dioscorea spongiosa* and their antiosteoporotic activity. *Planta med.* **70**, 54-58 (2004). Analytical and preparative TLC of diospongin A, B, and syringaresinol on silica gel and the monoacetone and diacetone of diospongin C, piperitol, and sesaminone on RP-18 with methanol - water 5:2. Analytical TLC of bis(4-N,N-dimethylaminobenzoate) on silica gel using chloroform - methanol 20:1. Detection under UV light at 254 nm.

Pharmaceutical research, traditional medicine, preparative TLC, qualitative identification, *Dioscorea spongiosa* 32e

- 93 162 Y. ZHANG, T. AKAO*, N. NAKAMURA, C.-L. DUAN, M. HATTORI, X.-W. YANG, J.-X. LIU (*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan): Extremely low bioavailability of magnesium lithospermate B, an active component from *Salvia miltiorrhiza*, in rat. *Planta med.* **70**, 138-142 (2004). Analytical and preparative TLC of lithospermate B salt mixture on silica gel with chloroform - ethyl acetate - benzene - formic acid - methanol 15:20:10:10:1.

Pharmaceutical research, herbal, qualitative identification, preparative TLC, *Salvia miltiorrhiza* 32e

- 93 121 O. M. HYUNE* (Oh Mi Hyune) (*Department of Herbal Medicine Evaluation, Korean Food and Drug Administration, Korea, ekkims@hanmail.net): Quality control of root extracts from

Platycodon grandiflorum. CBS **87**, 6-7 (2001). HPTLC on silica gel with chloroform - methanol - water 6:4:1. Detection by spraying with 10 % ethanolic sulfuric acid solution, followed by heating at 120 °C. Quantitative determination by absorbance measurement at 450 nm.

Quality control, traditional medicine, herbal, densitometry 32g

35. Other technical products and complex mixtures

93 165 F.M. TRIOLO, J. STANTON, M.J. CALANDRA* (*Firmenich, Inc., P.O. Box 5880, Princeton, NJ 08543, USA): Determination of antioxidant potency with planar chromatography. CBS **87**, 13-15 (2001). HPTLC of antioxidants on silica gel with cyclohexane - ethyl acetate 49:1 containing 2 mg/mL butylated hydroxytoluene over a distance of 25 mm after preconditioning with solvent vapor for 5 min. Quantitative determination by absorbance measurement at 442 nm.

Food analysis, antioxidants 35b, 15a

93 141 L. VICARD et al., see section 32a

93 009 D. JÄNCHEN* (Ed.), see section 5d

37. Environmental analysis

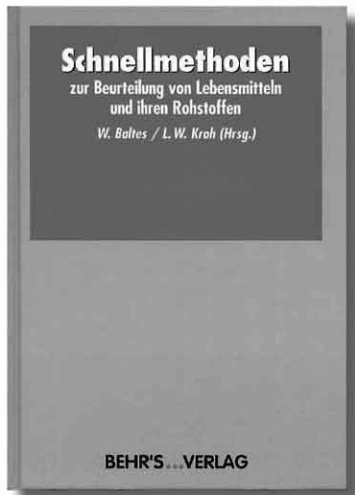
93 006 W. KREISS et al., see section 3e

93 010 D. JÄNCHEN* (Ed.), see section 5b

93 079 L. VICARD et al., see section 28a

93 080 I. VOVK et al., see section 28a

93 081 CH. WEINS et al., see section 28a



W. Baltes/L.W. Kroh (Hrsg.)

Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen

Behr's Verlag, Hamburg (2004)
ISBN 3-89947-120-2 – 429 Seiten

Im Vorwort zur 3. Auflage sagt der Herausgeber (Kroh) »... So ist es ein schwieriges Unterfangen, die(se) schnelle Entwicklung der Analytik in Form eines Buches zu begleiten, ohne sich den Vorwurf machen zu lassen, dass schon mit dem Erscheinen des Buches Teilgebiete »veraltet« sind. ...«

Soweit es das 26 Seiten umfassende Kapitel Dünnschicht-Chromatographie (K. Zieloff, M. Werther) betrifft – nur mit diesem hat sich der Unterzeichner befasst – ist dieser Gefahr hervorragend begegnet worden. Nach einer kurzen Einführung werden die Besonderheiten der DC/HPTLC, die geeignet sind, sie zur Methode der Wahl zu machen, erläuternd dargestellt. Sodann werden die Arbeitsschritte Auswahl des Schichtmaterials – Probenauftragung – Fließmittelauswahl und Chromatogrammentwicklung – postchromatographische Derivatisierung – quantitative Auswertung – Dokumentation, alle strikt aus der Sicht des heutigen Standes der Technik beschrieben und die möglichen Varianten diskutiert. Im Teil Anwendungsbeispiele aus dem Gebiet der Lebensmittelchemie werden behandelt: Unerwünschte Stoffe wie Mykotoxine, Pflanzenschutz- und sonstige Mittel, Stoffe mit pharmakologischer Wirkung und Zusatzstoffe. In der Zusammenfassung werden hervorgehoben: Einsatz der DC/HPTLC als Screening-Methode, ihre Bedeutung als quantitatives Analysenverfahren und Entwicklungstrends.

Das Kapitel gibt nicht nur dem Analytiker, der der instrumentellen Dünnschicht-Chromatographie noch reserviert gegenüber steht, einen professionellen Einblick in die Möglichkeiten der Methode, es bietet auch dem erfahrenen Praktiker eine Übersicht über den aktuellen Stand der Technik.

Wenn die übrigen Kapitel dem gleichen Standard entsprechen, was aufgrund der Auswahl von Themen und Autoren sowie der äusserlich erkennbaren Darstellung zu erwarten ist, kann man dem Herausgeber und den Autoren zu diesem Buch nur gratulieren.

Eine englisch-sprachige Ausgabe ist vorgesehen, doch kann über das voraussichtliche Erscheinungsdatum noch nichts gesagt werden.

Dieter Jänchen

Planar-chromatographischer Austausch im Jahre 2004



20

◀ Ehrung von Prof. Dr. Ebel

Das internationale Symposium »Planar Chromatography 2004« fand dieses Jahr vom 23.–25. Mai in Visegrad, Ungarn, statt. Es wurde zu Ehren von Herrn Prof. Dr. Ebel gehalten. Prof. Dr. Nyiredy hob als Organisator die bisher nie erreichte Anzahl von 60 Beiträgen (Vorträge und Poster) der ca. 80 Teilnehmer hervor, welche im 600 Seiten umfassenden Symposiumsband abgedruckt sind.

Das erste der diesjährigen Treffen des französischen planar-chromatographischen Clubs (CCCM), über den wir im CBS 90 ausführlich berichteten, fand am 3. Juni bei Aventis in Neuville sur Saone statt. Interessante Vorträge und Forschungsergebnisse sowie ein reger Austausch bereicherten das Auditorium. Das zweite Treffen ist bei Parfums Christian Dior, LVMH research group, in Saint Jean de Braye, nahe Orleans für den 21. Oktober 2004 angekündigt.



21

▲ Schnappschuss während der Kaffeepause (von links nach rechts): Prof. Dr. Sliwiok, Gründer der Symposiumsreihe 1977, Prof. Dr. Voelkel, Dr. Geiss, Teilnehmer, Prof. Dr. Soczewinski

Das XXVIIIth Symposium über »Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds« wurde vom 7.–9. Juni in Katowice-Szczyrk abgehalten. 37 Vortragende aus 8 verschiedenen Ländern, darunter auch aus Japan Prof. Dr. Tanaka und Prof. Dr. Jinno, und 124 Posterbeiträge verliehen dem Symposium mit ca. 250 Teilnehmern große wissenschaftliche Anerkennung. Das nächste, XXIXth Symposium findet vom 8.–10. Juni 2005 am gleichen Ort statt.



22

▲ Organisationsteam von Prof. Dr. Glowniak (sitzend) und Frau Zych, Donau Lab (3. von links, obere Reihe) in Kasimierz Dolny

Das 4. Internationale Symposium über Naturstoffe tagte vom 14.–17. Juni in Kasimierz Dolny in Polen. 39 Vorträge und 167 Poster repräsentierten den Stand der Wissenschaft in der Phytochemie. Das nächste Symposium findet 2006 in Lublin statt.



23

▲ Vortragende des Internationalen Chromatographie-Anwender-Treffens in Nürnberg-Lauf (von links nach rechts): Dr. Morlock, Dr. Mummeler, Prof. Dr. Kaiser, Prof. Dr. Ebel, Prof. Dr. Nyiredy, Dr. Renger, Frau Richter, Dr. Koch, Frau Hahn-Deinstrop, Dr. Schäfer

Frau Hahn-Deinstrop feierte ihr Ausscheiden aus dem aktiven Berufsleben im Rahmen eines Internationalen Chromatographie Anwender Treffens vom 25.–27. Juni in Nürnberg-Lauf. Es fand ein überragender Austausch in einem perfekt organisierten familiären Rahmen statt. Über 100 eingeladene Gäste würdigten das Lebenswerk von Frau Hahn-Deinstrop, das sich vor allem durch ihren hoch engagierten Einsatz für die Planar-Chromatographie auszeichnet.

Bestimmung von Progesteron in Arzneimitteln mit verzögerter Wirkstoff-Freisetzung



▲ Dr. Ahmad Jamshidi

Dr. Jamshidi* ist Analytiker in der Abteilung »Neue Arzneimittel-Dosiersysteme« (Novel Drug Delivery Systems, NDDS) im iranischen Polymer- und Petrochemischen Institut (IPPI). Er setzt chromatographische Trenntechniken im besonderen die instrumentelle Planar-Chromatographie ein, um neue und verbesserte quantitative analytische Methoden zur Bestimmung von Arzneimitteln, Steroiden, Antibiotika, Vitaminen, Additiven und Naturstoffen in unterschiedlichsten Matrices zu entwickeln. Er bevorzugt die HPTLC aufgrund ihrer Flexibilität, günstigen Ökonomie, Schnelligkeit und geringen Umweltbelastung.

Einleitung

Zielsetzung der kontrollierten Abgabe von Arzneimitteln aus den Darreichungsformen ist, die Wirksamkeit eines aktiven Stoffes zu verlängern, damit das Vorhandensein des Stoffes über die geforderte Zeitspanne gewährleistet ist. Eine Vielzahl an Polymeren können die kontrollierte Abgabe von Arzneimitteln unterstützen aufgrund der Wechselwirkung des Polymers mit dem Arzneimittel. Unter den neuen polymeren Dosiersystemen sind silikon-basierte Progesteron-Darreichungsformen ins Blickfeld geraten. Die Optimierung des Abgabeprofils erfordert einen hohen Durchsatz an Progesteronproben aus dem Dosiermedium über einen weiten Konzentrationsbereich.

In dieser Anwendung ist die HPTLC-Bestimmung vorteilhaft, da sie kostengünstig und schnell ist. Bis zu 15 Proben (als Doppel-Bestimmung) können gleichzeitig in weniger als 15 min bestimmt werden. Der Lösungsmittelverbrauch beträgt dabei ca. 10 mL. Durch das Vorwaschen der HPTLC-Platten mit geeigneten Lösungsmitteln und anschließendes Trocknen können HPTLC-Platten sogar bis zu 10 mal wieder verwendet werden ohne signifikante Nachteile für die Zuverlässigkeit der analytischen Ergebnisse. Die dargestellte Methode ist einfach, schnell, genau und präzise. Sie ist als High-throughput-Methode geeignet mit einer bemerkenswerten Einsparung an Arbeitszeit, Materialeinsatz und Lösungsmittel.

Schicht

HPTLC-Platten Kieselgel 60 F_{254s} (Merck), 20 × 10 cm, 2-fach vorgewaschen durch Chromatographie in Chloroform – Methanol 1:1 und im Fließmittel mit anschließender Trocknung auf dem DC-Plattenheizer für 15 min bei 80 °C.

Probenauftragung

Bandförmig mit DC-Probenautomat, 36 Bahnen, Bandlänge 2 mm, Bahnabstand 4 mm, Auftragevolumen je nach Probenkonzentration 50–3000 nL, unterer Randabstand 10 mm, seitlicher Randabstand 20 mm.

Chromatographie

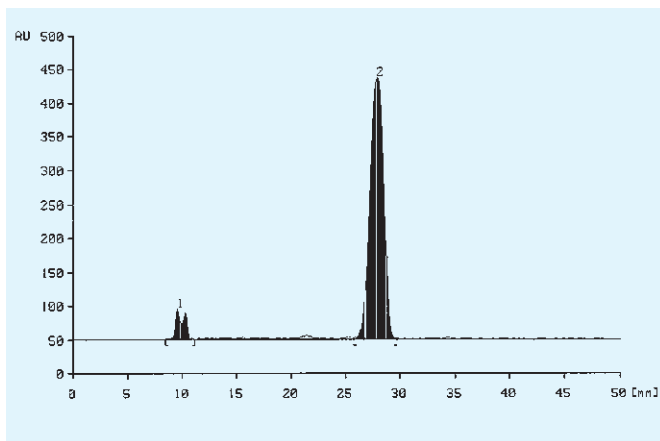
Im AMD2-System mit Toluol – 2-Propanol 10:1, ohne Vorkonditionierung, Laufstrecke 60 mm, Trocknungszeit 10 min. Das AMD2-System wurde auch zum Vorwaschen der Platten eingesetzt, da es vollautomatisiert und GLP-konform ist.

Densitometrische Auswertung

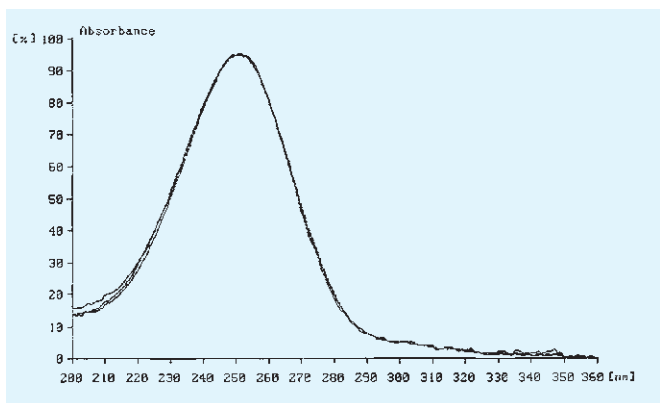
TLC-Scanner 3 mit CATS Software, Absorptionsmessung bei 252 nm gefolgt von Spektrenaufnahme von 200 bis 360 nm

Ergebnisse und Diskussion

Ein repräsentatives Densitogramm der simulierten Probe ist nachfolgend dargestellt. Simulierte und dotierte Proben entsprechen dem R_F -Wert des Standards und sind von Matrixbestandteilen gut abgetrennt. Die Identität von Progesteron wird durch Spektrenvergleich zwischen Probe und Standard belegt. Die optimale Wellenlänge von 252 nm zur densitometrischen Auswertung wurde durch die Aufnahme von in situ-UV-Spektren belegt. Die Kalibration wurde über einen weiten Kalibrationsbereich (25.7–515.0 ng/Zone) aufgenommen, und der lineare Arbeitsbereich wurde in einem begrenzten Kalibrationsbereich ermittelt (25.7–154.5 ng/Zone).



▲ Densitogramm einer simulierten Progesteronprobe (2 = Progesteronpeak) bei UV 252 nm



▲ Vergleich der UV-Spektren von Progesteronproben mit dem Standard im Bereich von 200 bis 360 nm



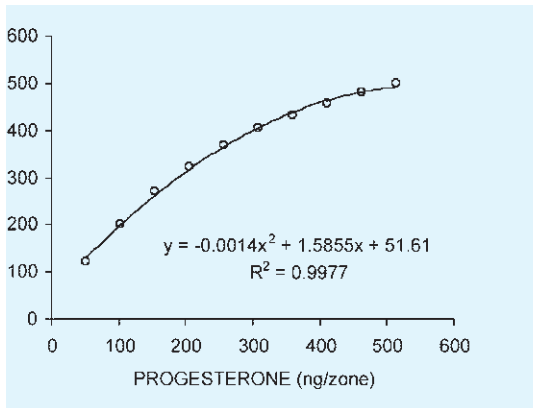
27

CAMAG TLC-Scanner 3

Dr. Jamshidi setzt die klassische Densitometrie mit dem CAMAG TLC-Scanner 3 zur bestmöglichen Genauigkeit der quantitativen Auswertung ein. Die Verwendung der optimalen Messwellenlänge ist unverzichtbar, wenn spektrale Selektivität und Empfindlichkeit gefordert werden.

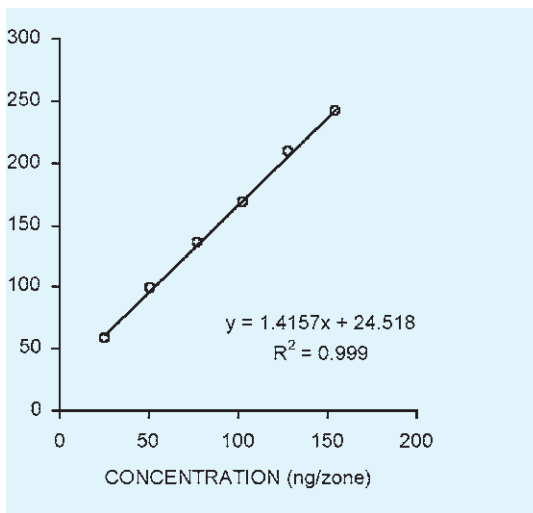
Auch nutzt er die Spektrenaufnahme als zusätzliche Absicherung, die nur die klassische Densitometrie bietet. Nicht nur der von ihm verwendete Abschnitt von 200 bis 360 nm, sondern der gesamte spektrale Bereich von 190–800 nm steht zur Spektrenaufnahme zur Verfügung. Absorptionsspektren (bei fluoreszierenden Substanzen auch Anregungsspektren) können zur zusätzlichen Absicherung der Identität von Substanzen aufgenommen werden. Die Korrelation zwischen Probe- und Standardspektren sowie die Spektrenübereinstimmung innerhalb eines Peaks (Peakreinheit) kann ermittelt 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.



28

▲ Polynome Kalibration von Progesteron im Bereich von 25.7 bis 515.0 ng/Zone



29

▲ Linearer Arbeitsbereich von Progesteron im Bereich von 25.7 bis 154.5 ng/Zone

Die Wiederholbarkeit der Methode wurde als Standardabweichung über 7 simulierte Progesteronproben auf derselben Platte bei 3 verschiedenen Konzentrationsniveaus im unteren, mittleren und oberen Bereich berechnet. Die Wiederfindungsdaten der simulierten Proben belegen eine hohe Wiederfindungsrate von Progesteron im linearen Arbeitsbereich. Die Daten zur Reproduzierbarkeit auf mehrfach verwendeten HPTLC-Platten zeigen, dass die Platten wieder verwendet werden können ohne signifikante Konsequenzen für die Zuverlässigkeit des analytischen Ergebnisses. Eine Wiederverwendung von gewaschenen Platten muss jedoch analytisch abgesichert und während der Anwendung sorgfältig beobachtet werden.

Wiederholbarkeit

Messung	Konzentration an Progesteron (ng/Zone)		
	I	II	III
1	27.14	72.80	144.96
2	27.69	73.83	144.11
3	27.70	73.81	144.11
4	28.00	73.92	143.90
5	28.14	73.81	144.00
6	28.15	74.80	143.95
7	27.98	73.73	143.96
Mittelwert (ng/Zone)	27.83	73.81	144.14
SD	0.36	0.58	0.37
RSD	1.29	0.78	0.26

Wiederfindung von Progesteron

Sollwert (ng/Zone)	27.70	72.81	144.89
Gefunden (ng/Zone)*	27.97	72.72	145.14
Wiederfindungsrate (%)	100.97	99.88	100.17

*Mittelwert von 7 unterschiedlichen Bestimmungen

Reproduzierbarkeit auf mehrfach verwendeten Platten

x-mal wieder verw.	Mittelwert ± SD (n=3)			Wiederfindungsrate (%)			RSD (%)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	28.14 ± 0.44	72.81 ± 0.55	144.80 ± 0.11	101.59	100.00	99.93	1.56	0.75	0.07
2	28.15 ± 0.36	73.02 ± 0.48	144.11 ± 0.09	101.62	100.28	99.46	1.28	0.66	0.06
3	26.69 ± 0.27	73.73 ± 0.44	143.96 ± 1.32	96.35	101.26	99.36	1.01	0.60	0.92
4	27.03 ± 0.60	70.81 ± 1.02	144.00 ± 0.19	97.58	97.25	99.38	2.22	1.44	0.13
5	28.00 ± 0.55	72.13 ± 0.09	143.90 ± 0.58	101.08	99.06	99.32	1.96	0.12	0.40
6	27.14 ± 0.32	74.80 ± 0.88	144.11 ± 0.60	97.97	102.7	99.46	1.18	1.18	0.41
7	27.69 ± 0.39	73.73 ± 0.35	143.95 ± 0.87	99.96	101.26	99.35	1.41	0.47	0.60
8	27.70 ± 0.50	73.81 ± 0.44	144.96 ± 0.10	100.00	101.37	100.05	1.80	0.60	0.07
9	28.15 ± 0.54	71.90 ± 0.07	144.14 ± 0.39	101.62	98.75	99.48	1.91	0.09	0.27
10	27.02 ± 0.48	73.81 ± 0.36	144.00 ± 1.00	97.54	101.37	99.38	1.77	0.49	0.69

Weitere Informationen sind vom Autor auf Anfrage erhältlich.

*Dr. Ahmad Jamshidi, Department of Novel Drug Delivery Systems, Iran Polymer and Petrochemical Institute, P.O. Box 14965/115, Tehran, Iran, a.jamshidi@ippi.ac.ir

Erfreuliches aus China

Die Staatliche Food and Drug Administration (SFDA) der Volksrepublik China hat kürzlich ein mobiles Drogen-Überwachungs-Programm (Mobile Drug Testing Program) ins Leben gerufen, um damit den sicheren Gebrauch von Arzneimitteln in ländlichen Gebieten zu fördern und die Einhaltung der entsprechenden Bestimmungen zu sichern. Das Programm wurde entwickelt vom National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products (NICPBP). Es handelt sich um mobile Einheiten, ausgestattet mit zwei Betriebssystemen, einer umfassenden Datenbank und einem schnellen Drogen-Identifizierungssystem. Damit wird eine effiziente Handhabung geboten, mit der Verfälschungen und Nachahmungen aufgespürt werden können, insbesondere in kleineren Städten und Dörfern, die über kein eigenes Untersuchungsamt verfügen.

Das Identifizierungssystem benutzt drei verschiedene analytische Methoden, Planar-Chromatographie (TLC), Infrarot-Spektroskopie (NIR) und chemische Analyse. Beim Jahres-Arbeitstreffen der SFDA im Januar 2004 inspizierte Frau Yi Wu, Gesundheitsministerin und Vize-Premier der Volksrepublik China, persönlich die entsprechend ausgerüsteten Fahrzeuge und genehmigte das Untersuchungsprogramm für die entlegenen Gebiete der Volksrepublik. Frau Wu forderte die SFDA auf, das Programm auf das ganze Land auszudehnen. Im März 2004 genehmigte das Chinesische Finanzministerium ein Budget für 344 mobile Drogen-Überwachungseinheiten, die bis 2006 aufgestellt und verteilt werden sollen.

CAMAG und ihre Vertriebsgesellschaft CCSU (CAMAG China Supporting Unit) als Marktführer der Planar-Chromatographie (TLC/HPTLC) sind stolz darauf, eingeladen zu sein, sich aktiv der technischen und Ausbildungs-Angelegenheiten anzunehmen und sich massgebend an der Ausstattung für dieses Gesundheits-Förderungsprogramms zu beteiligen.



30

▲ Eine der mobilen SFDA Prüfstationen. Eine komplette Ausrüstung für Planar-Chromatographie gehört, wie aus der Beschreibung hervorgeht, zur Ausstattung dieser Fahrzeuge.



31

▲ Inspektion der mobilen SFDA Überwachungseinheiten durch Frau Wu, Vize-Premierministerin der Volksrepublik China und zugleich Gesundheitsministerin; Herr Zhang, Direktor des SFDA (links) und Herr Jin, Vizedirektor des National Institute of the Control of Pharmaceutical & Biological Products der P. R. China (hinter Frau Wu)

Neues HPTLC-MS-Verfahren zur Bestimmung von heterocyclischen aromatischen Amininen



▲ Forschungsgruppe Planar-Chromatographie: Stephanie Häberle, Ute Jautz, Dr. Gerda Morlock* (von links nach rechts)



▲ Prof. Dr. Wolfgang Schwack

Der Arbeitskreis von Professor Schwack, Institut für Lebensmittelchemie der Universität Hohenheim, beschäftigt sich seit über 15 Jahren mit der Fotochemie von Pflanzenschutzmitteln, der Bildung und der Bestimmung gebundener Rückstände in und auf pflanzlichen Lebensmitteln, der Rückstandsanalytik von Dithiocarbamat-Fungiziden, der Fotochemie von UV-Filtern in kosmetischen Sonnenschutzmitteln sowie der Analytik und Bioverfügbarkeit von Carotinoiden. Neben immunchemischen Methoden werden alle chromatographischen Verfahren eingesetzt, inkl. LC-MS, GC-MS und HSCCC, sowie auch IRMS. Hinzugekommen ist seit 2003 die Forschung in der modernen Planar-Chromatographie. Ein neu erarbeitetes HPTLC-Verfahren zur Bestimmung von heterocyclischen aromatischen Amininen (HAA) wird nachfolgend dargestellt. Zur Kopplung mit der Massenspektrometrie wird ein online-Extraktor eingesetzt.

Einleitung

Heterocyclische aromatische Amine (HAA) entstehen beim Erhitzen von Fleisch und Fisch und sind als mutagen und kanzerogen im Tierversuch einzustufen. In der Nahrung konnten mehr als 20 verschiedene, strukturell jedoch sehr ähnliche HAA mit Gehalten im unteren $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich identifiziert werden. Sie werden bei hohen Temperaturen in komplexen Reaktionen aus den Vorstufen Kreatinin, Aminosäuren und reduzierenden Zuckern gebildet. Als verbreitetste Methode zur quantitativen Bestimmung gilt die RP-HPLC mit kombinierter UV-DAD und fluorimetrischer Detektion. Weitere analytische Verfahren sind LC-MS, LC-MS/MS, GC-MS oder CE-UV/DAD. Die genannten Verfahren sind jedoch recht aufwendig und der Probendurchsatz pro Tag ist gering. Eine weitere Schwierigkeit der HPLC-Methode liegt bei der Probenvorbereitung mittels Festphasenextraktion. Die saubere Trennung der beiden Substanzgruppen in polare und unpolare Fraktionen ist erschwert, da einige HAA in beiden Eluatenvorkommen. Die Auswertung muss bei diesen durch die Ermittlung von Summenpeaks erfolgen.

Ein Verfahren zur schnellen, kostengünstigen und auch einfacheren quantitativen Bestimmung der HAA wurde seit langem gesucht. Eine neue planar-chromatographische Methode basierend auf automatisierter Mehrfachentwicklung wurde entwickelt. Die planar-chromatographische Trennung ist im Gegensatz zum HPLC-Gradienten um den Faktor sieben schneller und erlaubt ein effektiveres Screening auf belastete Proben. Die Ersparnis an Lösungsmittel beläuft sich auf 90 %.

Dadurch dass alle Substanzzonen auf der HPTLC-Schicht gespeichert werden, lässt sich das Massenspektrometer gezielt zur Absicherung positiver Ergebnisse einsetzen. Dies ermöglicht eine selektive und empfindliche planar-chromatographische Bestimmung mit minimaler zeitlicher Beanspruchung des MS-Gerätes.

Probenvorbereitung

30 g Probe werden homogenisiert und mit Extrelut^{®NT} vermischt. Die HAA werden extrahiert und nacheinander auf einer Kationenaustauscher- und auf einer C18-Kartusche adsorbiert, jeweils eluiert und eingengt.

Schicht

HPTLC-Platten Kieselgel 60 WRF_{254s} (Merck), 20 x 10 cm, vorgewaschen mit Methanol (durch Chromatographie) und getrocknet für 30 min bei 120 °C.

Probenauftragung

Bandförmig mit DC-Probenautomat 4, 16 Bahnen, Auftragevolumen 2 µL, Bandlänge 8 mm, unterer Randabstand 8 mm, seitlicher Randabstand 20 mm, Bahnabstand 10 mm

Chromatographie

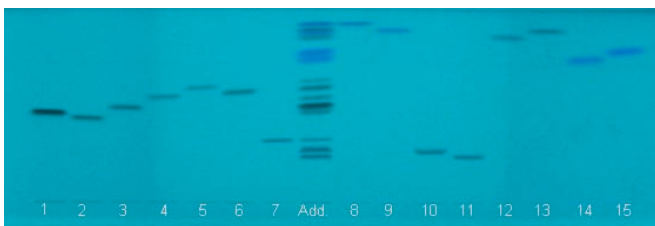
Im AMD2-System Mehrfachentwicklung über 6 Stufen mit Diethylether, Methanol und Chloroform, alkalische Konditionierung über die Gasphase, max. Laufstrecke 60 mm

Densitometrische Auswertung

TLC-Scanner 3 mit winCATS Software, Mehrwellenlängen (MWL-Scan) der Absorption bei 252, 262 und 316 nm und der Fluoreszenz bei 366/>400 nm, polynome Auswertung über die Peakfläche und -höhe

Ergebnisse und Diskussion

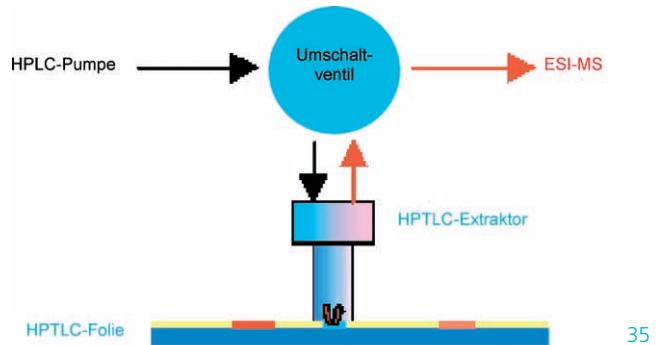
Die Bestimmungsgrenzen der 15 HAA-Standardsubstanzen wurden nach dem Signal-Rausch-Verhältnis ermittelt. Sie lagen im Fluoreszenz- sowie UV-Bereich im unteren Nanogrammbereich zwischen 1 und 45 ng absolut auf der Platte. Fluoreszenzverstärker, die die Bestimmungsgrenze der fluoreszierenden HAA nochmals um den Faktor 10–100 verbessern könnten, sind noch zu untersuchen.



▲ Auflicht-Chromatogramm der 15 HAA bei UV 254 nm, AMD-Entwicklung auf HPTLC-Platten Kieselgel 60 WRF_{254s}, Bahnbelegung: Bahn 1–15 Einzelstandards, mittlere Bahn Standardgemisch

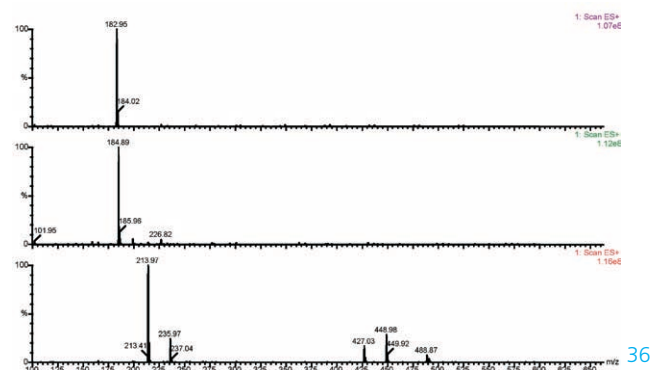
Zur online Kopplung der HPTLC mit der MS wurde der neu-entwickelte Extraktor von Dr. Luftmann** eingesetzt. Der Charme des gewählten Systems liegt in der Einfachheit und Praktikabilität. Bei einem gegebenen LC-MS-System benötigt man nur das Extraktormodul, um von einem interessierenden

positiven Probenergebnis innerhalb einer Minute online ein Massenspektrum zu generieren. Die Elektrosprayionisation, das meistgenutzte und bewährte Ionisierungsverfahren in der LC-MS, wird hierbei auf die Planar-Chromatographie übertragen.



▲ Schema des HPTLC-MS online-Extraktors (mit freundlicher Genehmigung von Dr. Luftmann)

Die rasche, kontaminationsfreie online-Extraktion (ca. 0,5 min Elutionszeit/Zone) mit minimalem Lösungsmittelverbrauch ist bedeutend schneller als Abkratzen, Elution und Einspritzen mittels MS-Direkteinlass. Das Extraktionsprinzip ist auf allen Schichten anwendbar, jedoch zur Zeit noch beschränkt auf das Trägermaterial Alufolie oder Kunststoff, da dieses besser den Extraktorstempel abdichtet als Glas.



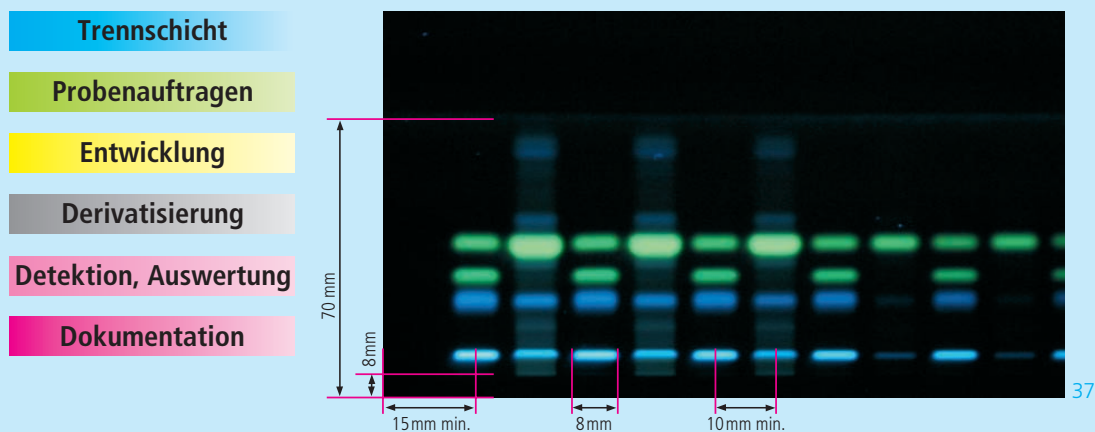
▲ Online HPTLC-MS-Spektrum von Harman (oben, m/z 183 $[M+H]^+$), Glu-P-2 (Mitte, m/z 185 $[M+H]^+$) und MelQx (unten, m/z 214 $[M+H]^+$, m/z 236 $[M+Na]^+$, m/z 427 $[2M+H]^+$, m/z 449 $[2M+Na]^+$)

Weitere Informationen sind bei den Autoren auf Anfrage erhältlich.

* Dr. Gerda Morlock, Universität Hohenheim, Institut für Lebensmittelchemie (170), Garbenstr. 28, 70599 Stuttgart, gmorlock@uni-hohenheim.de

** Luftmann H (2004) Anal Bioanal Chem 378: 964-968, email Luftman@uni-muenster.de

Standardisierung – ein Schlüsselfaktor der modernen Planar-Chromatographie



Der Einsatz moderner Geräte für alle Schritte der planar-chromatographischen Bestimmung, die Verwendung von HPTLC-Platten und die Steuerung aller Geräte durch die leistungsstarke Software winCATS Planar Chromatography Manager festigen den Standpunkt der modernen Planar-Chromatographie unter den heutigen Hochleistungs-Trenntechniken.

Aufgrund ihres offline-Prinzips bietet die HPTLC eine enorme Flexibilität und stellt eine nahezu unbegrenzte Anzahl individueller Parameter zur Auswahl. Nur ist ein Übereinkommen seitens der Analytiker über »Standard-Parameter« oder eine »Standard-Arbeitsweise« noch nicht erfolgt. Diese Tatsache schränkt oft die Wiederholbarkeit publizierter HPTLC-Methoden ein und verursacht Unsicherheit hinsichtlich der Zuverlässigkeit qualitativer und quantitativer Daten. Auf der anderen Seite können präzise und genaue Ergebnisse erhalten werden, wenn die Methode ordnungsgemäß dokumentiert, validiert und ausgeführt wird. Deshalb ist Standardisierung nicht nur ein Schlüsselfaktor der modernen Planar-Chromatographie, sondern auch einer ihrer grössten Wachstumsfaktoren. Offensichtlich kann Standardisierung dazu beitragen, die Transparenz und Übertragbarkeit von Daten zu verbessern.

Gegenwärtig werden die allgemeinen Kapitel zur DC in den Europäischen, Chinesischen und Amerikanischen Pharmacopoeias überarbeitet mit dem Ziel, Fortschritte bezüglich des wissenschaftlichen Standes und der Technologieentwicklung einzuarbeiten. Damit stehen die Chancen eine standardisierte und international harmonisierte Vorstellung von der modernen Planar-Chromatographie zu erreichen so gut wie nie. CAMAG ist bereit, diesen wichtigen Prozess mit Nachdruck zu unterstützen. Eine Standardarbeitsanweisung (SOP) für HPTLC wird seitens CAMAG vorgeschlagen. Diese SOP ist auf der Homepage www.camag.com zu finden, zusammen mit aktuellen Veröffentlichungen zu diesem Thema. Ihre Meinung ist uns wichtig und jederzeit willkommen (email an info@camag.com).