

Ergebnisprotokoll Versuch 10

Digitalis: Qualitative und Quantitative Analytik

1. Stichworte

- Herzwirksame Glykoside (*Cardenolide, Bufadienolide, Vorkommen, Strukturen*)
- Methoden (*Dünnschichtchromatographie, Detektion, Photometrie als Meisenheimer-Salz*)

2. Einleitung

Zwei unbekannte Digitalisdrogen sollen zunächst dünnschichtchromatographisch anhand ihres Spektrums an herzwirksamen Glykosiden identifiziert oder zumindest voneinander abgegrenzt werden. In einem zweiten Versuch wird der Gehalt an herzwirksamen Glykosiden quantifiziert um eine Aussage über die Qualität der Droge machen zu können. Hierbei soll ferner untersucht werden, ob sich der Einsatz einer PVP Lösung zum Abtrennen von Gerbstoffen als zweckdienlich erweist.

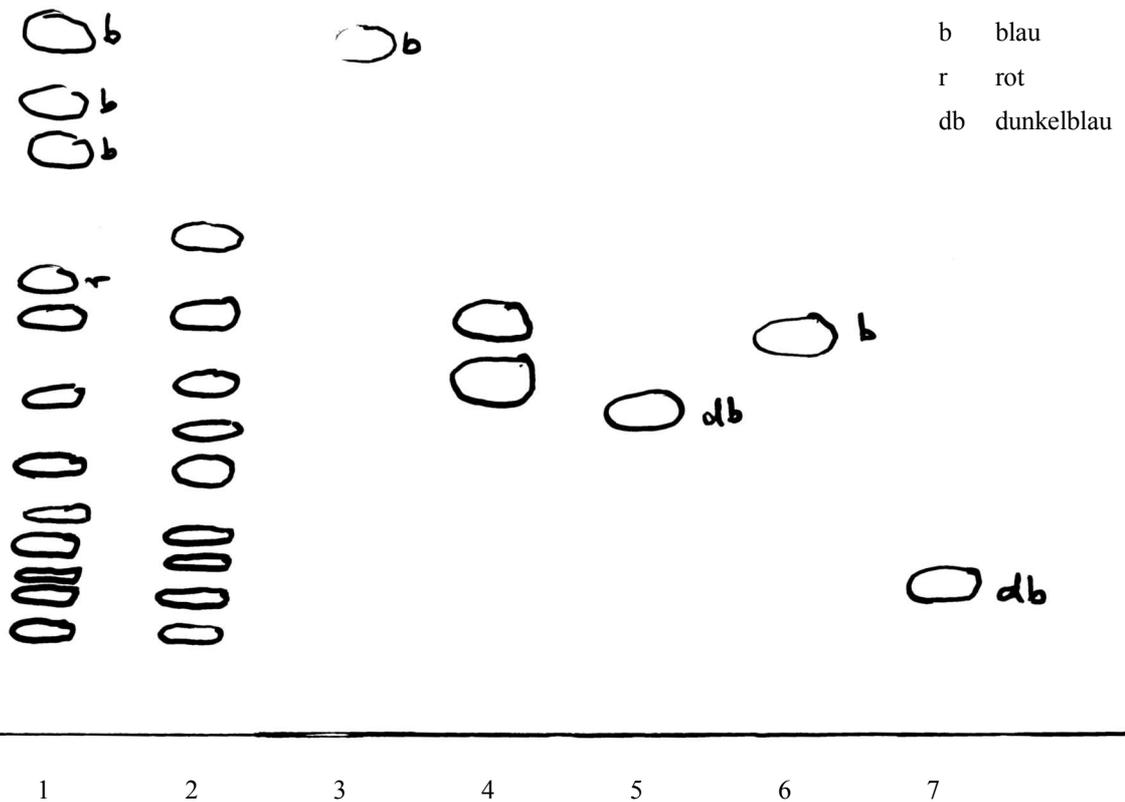
3. Versuchsdurchführung

Die für die Dünnschichtchromatographie eingesetzten Proben wurden durch einfache ethanolische Extraktion aus den Drogen gewonnen. Anzumerken ist hier lediglich die starke Emulsionsbildung infolge des Zusatzes von Polyvinylpyrrolidon, die eine Zentrifugation zur Phasentrennung erforderlich machte. Die zur quantitativen Analyse verwandten Extrakte der durch Hydrolyse gewonnenen Genine wurden nach den Vorgaben des Praktikumsskriptes¹ hergestellt, wobei sich ebenfalls der Zusatz von PVP als hinderlich erwies. Bei der anschließenden photometrischen Vermessung des mit 3,5-Dinitrobenzoesäure gebildeten Meisenheimer-Salzes wurde über einen Zeitraum von zwölf Minuten beobachtet um die maximale Absorbtion zu ermitteln. Der Gehalt an herzwirksamen Glykosiden wurde durch eine Mischung aus externem und internem Standard Verfahren ermittelt.

4. Messdaten

Zeit [min]	Extraktion mit PVP	Extraktion ohne PVP	Digitoxin-Standard
0	0,485	0,418	0,309
2	0,508	0,469	0,327
4	0,525	0,492	0,341
6	0,524	0,497	0,342
8	0,520	0,503	0,340
10	0,518	0,499	0,342
12	0,516	0,497	0,354

5. Auswertung der Dünnschichtchromatogramme



R _f -Werte						
Bahn I	Digitalis lanata	0,21		0,45		0,92
Bahn II	Digitalis purpurea		0,41	0,47		
Bahn III	FAM					0,91
Bahn IV	Gitoxin			0,46		
Bahn V	Digoxin		0,43			
Bahn VI	Digitoxin				0,52	
Bahn VII	Lanatosid C	0,20				

6. Quantitative Analyse der Extrakte durch Photometrie als Meisenheimer-Salz

Der Gehalt an herzwirksamen Glykosiden bezogen auf Digitoxin, das als externer Standard genutzt wurde und in Analogie zu einem internen Standard vergleichbare Probenaufbereitungsschritte durchlaufen hat, berechnet sich unter Berücksichtigung der Verdünnungsstufen wie folgt:

$$\omega[\%] = \frac{\text{Absorption}_{\text{Probe}} \cdot 5 \text{ ml} \cdot \frac{2 \text{ mg Digitoxin}}{20 \text{ ml}} \cdot \frac{55 \text{ ml}}{50 \text{ ml}}}{\text{Absorption}_{\text{Digitoxinstandard}} \cdot \text{Einwaage}[\text{mg}]} \cdot 100 = 55 \cdot \frac{\text{Absorption}_{\text{Probe}}}{\text{Absorption}_{\text{Digitoxinstandard}} \cdot \text{Einwaage}[\text{mg}]}$$

Zur Berechnung werden die jeweils beobachteten Maximalwerte herangezogen. Grund dafür, dass ein Maximum durchlaufen wird, ist, dass sich das Meisenheimer-Salz nicht schlagartig bildet, sondern langsam zustandekommt. Der gegenläufige Prozess der Lactonspaltung durch das benötigte basische Milieu führt dazu, dass ein Maximum beobachtet werden kann, ab dem die Bildungsrate des Meisenheimer-Salzes der Hydrolyserate unterliegt.

Der Gehalt an herzwirksamen Glykosiden berechnet sich hiernach zu 0,32% bzw. 0,34% bei Einsatz einer Polyvinylpyrrolidonlösung.

7. Diskussion der Versuchsergebnisse

Abgesehen davon, dass die Droge mit einem vorgeschriebenen Mindestgehalt von > 1% nicht den Anforderungen des Arzneibuches entspricht, scheint die Verwendung von PVP zur Abtrennung von Gerbstoffen wenig zweckdienlich. Der scheinbare Gewinn an erfassten Herzglykosiden steht in keiner Relation zum praktischen Mehraufwand bei der Probenaufbereitung, insbesondere in Anbetracht der fraglichen Ausstattung einer Apotheke mit einer Zentrifuge.

Die Auswertung des Dünnschichtchromatogramms zeigt das erwartete Laufverhalten der Referenzsubstanzen. So unterscheiden sich die einfach hydroxylierten Derivate *Digoxin* und *Gitoxin* kaum voneinander, während *Digitoxin*, das das im Vergleich unpolarste Genin enthält, etwas weiter läuft und *Lanatosid C* als Primärglykosid deutlich stärker reteniert wird, da die zusätzliche Glucose die Polarität wesentlich erhöht. Die durch Abnahme der Glykosidierung deutlich zunehmende Lipophilie der untersuchten Verbindungen zeigt sich besonders gut an den hergestellten Extrakten, bei denen sich die Primärglykoside im unteren Bereich des Dünnschichtchromatogramms wiederfinden, während die Genine mit R_f -Werten von über 0,9 an vorderster Front liegen. Die Zuordnung der zunächst unbekanntesten Drogen gelingt unter der Einschränkung, dass es sich um *Digitalis lanata* oder *Digitalis purpurea* handeln soll. Das Vorkommen von Lanatosid C im Extrakt auf Bahn I ist ein eindeutiger Hinweis auf *Digitalis lanata*, da die Glykoside der Reihe C in *Digitalis purpurea* nicht vertreten sind.

8. Quellen

- 1 Arbeitsunterlagen zum Praktikum Pharmazeutische Biologie III SS 2004
 Methoden der phytochemischen Untersuchung, Pharmazeutische Biologie
 Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Fassung SS 2004