

67. Note sur la chromatographie de quelques monoesters d'acides du phosphore et de l'acide sulfurique

par J. Rabinowitz, Br. Baehler et G. Weber

(30 X 65)

Nos travaux sur les monoesters des acides du phosphore et de l'acide sulfurique nous ont incités à mettre au point des méthodes chromatographiques pour la séparation et l'identification de ces monoesters.

Depuis les travaux de HANES & ISHERWOOD [1], la séparation chromatographique des esters des acides du phosphore a fait l'objet de nombreuses études. Par contre la chromatographie des monoesters sulfuriques (acides alcoyl-sulfuriques) ne semble pas avoir beaucoup intéressé les chercheurs jusqu'ici.

En raison de la forte polarité des acides alcoyl-sulfuriques, -phosphoriques et -phosphoreux, leur séparation chromatographique n'est pas toujours aisée, ces substances ayant tendance à migrer avec le front ou à rester au point de départ.

Notre étude portant sur des monoesters d'acides polyvalents, il s'agit de corps ionisables. Dès lors, il y a avantage à se placer dans des conditions où chaque corps envisagé ne se trouve présent que sous une seule forme ionique, p. ex. ion monovalent ($R-OSO_3^-$), ion bivalent ($R-OPO_3^{2-}$), ion dipolaire («zwitterion») (p. ex. $\oplus NH_3CH_2CH_2-O-SO_3^\ominus$); de cette manière la formation de traînées est ramenée à un minimum.

Moyennant ces précautions, il est possible de chromatographier sur couche mince dans de bonnes conditions des monoesters alcoylphosphoriques, des monoesters aminoalcoylphosphoriques, aminoalcoylphosphoreux et aminoalcoylsulfuriques.

Partie expérimentale

1. *Monoesters alcoylphosphoriques.* La séparation n'offre pas de difficultés spéciales, si ce n'est que des dérivés de constitution très voisine, comme les esters méthylique et éthylique, ont des R_f très proches. Parmi les éluants essayés (v. tableau 1) pour la chromatographie sur couche mince de cellulose, le mélange butanol-1, acide acétique, eau, 50:20:30 (mélange H, tableau 1) donne les meilleurs résultats, car il permet d'obtenir des taches compactes et presque rondes, dépourvues de traînées (v. fig. 1).

Les chromatoplaques ont été préparées par étalement d'une suspension aqueuse de cellulose MN 300¹⁾ en une couche de 0,25 mm avec l'appareil de STAHL [3] et ont été séchées à l'étuve à 50° pendant 40 min.

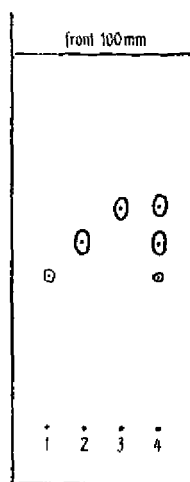
Les chromatoplaques ont été révélées selon HANES & ISHERWOOD [1] par aspersion avec une solution perchlorique-chlorhydrique de molybdate d'ammonium (solution aqueuse de molybdate d'ammonium à 2,5% : 10 ml, acide perchlorique à 60% : 1,25 ml, acide chlorhydrique concentré à 37% : 0,25 ml, eau pour 25 ml), suivie d'exposition à la lumière: les taches apparaissent peu à peu en bleu sur fond blanc.

¹⁾ Cellulose MN 300 pour chromatographie en couche mince selon STAHL (MACHEREY, NAGEL & Co., Düren, Allemagne).

Tableau 1. *Chromatographie sur couche mince de cellulose des monoesters méthyl- et éthylphosphoriques*

Substance	Rf × 100 dans les solvants							
	A	B	C	D	E	F	G	H
$\text{CH}_3\text{OPO}_3\text{H}_2$	39	39	16	11	29	24	32	49
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OPO}_3\text{H}_2$	45	44	25	22	41	39	42	59
H_3PO_4	0	0	0	4	21	17	24	40

A = *n*-PrOH, NH_3 25%, H_2O , 6:3:1; B = *n*-PrOH, NH_3 2N, 6:4; C = Pyridine, NH_3 25%, H_2O , 6:2:1 [2]; D = *n*-BuOH, AcOH, H_2O , 77:6:17; E = 60:15:25; F = 70:10:20; G = 60:20:20; H = 50:20:30 (E, F, G, H, mêmes solvants que D).

Fig. 1. *Chromatographie de monoesters alcoylphosphoriques*

1 = H_3PO_4 , 2 = $\text{CH}_3\text{OPO}_3\text{H}_2$, 3 = $\text{C}_2\text{H}_5\text{OPO}_3\text{H}_2$, 4 = mélange de 1 + 2 + 3. Phase stationnaire: Cellulose MN 300; phase mobile: *n*-butanol, acide acétique, eau, 50:20:30. Quantités déposées: 10 μg . Révélateur: réactif de HANES & ISHERWOOD [1].

La chromatographie descendante sur papier (WHATMAN n° 3), solvant: *n*-propanol, NH_3 conc., H_2O , 6:3:1, durée 14 h, permet une bonne séparation du mélange des monoesters méthyl- et éthyl-phosphorique, lorsque l'ester méthylique se trouve dans de faibles proportions par rapport à l'ester éthylique (il faut que la tache de faible intensité ait un Rf supérieur à celui de la tache de forte intensité). Dans le cas inverse, les taches diffusent et une estimation quantitative des deux constituants devient impossible. La révélation des taches se fait par le réactif de HANES & ISHERWOOD [1].

2. *Monoesters aminoalcoyl-phosphoriques et -phosphoreux*. Dans nos conditions opératoires, le gel de silice WOELM²⁾, s'est montré supérieur à la cellulose MN 300 (taches diffuses), et le gel de silice G MERCK³⁾, inutilisable (mauvaise séparation et diffusion des taches).

Les phases mobiles à base de méthanol et d'ammoniaque permettent une bonne séparation, et parmi elles, le mélange NH_3 25%, MeOH, 1:1 (mélange E du tableau 2) est le plus favorable (v. fig. 2).

Les chromatoplaques, préparées par étalement direct (sans applicateur [5]) d'une suspension de 1,6 g de gel de silice WOELM²⁾ dans 5 ml d'acétate d'éthyle sur une plaque de 5 × 20 cm, ont été séchées à l'air pendant 15 à 30 min. Les taches ont été révélées par le réactif de HANES & ISHERWOOD [1].

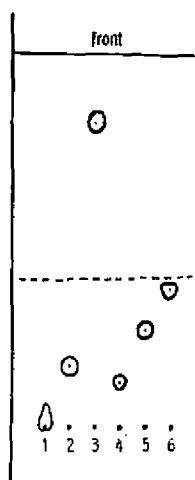
²⁾ Gel de silice WOELM, pour chromatographie en couche mince (M. WOELM, Eschwege, Allemagne).

³⁾ Gel de silice G. MERCK, pour chromatographie en couche mince selon STAHL (E. MERCK AG, Darmstadt, Allemagne).

Tableau 2. *Chromatographie sur couche mince de cellulose et de gel de silice d'acides aminoalcoylphosphoriques et de l'acide colaminephosphoreux*

Substance	Rf × 100 Phase stationnaire					
	Cellulose MN 300 G Solvants		Gel de silice WOELM Solvants			
	A	B	C	D	E	F
H ₃ PO ₄	—	—	3	2	3	—
H ₂ NCH ₂ CH ₂ OPO ₃ H ₂	30	24	5	8	16	27
H ₂ NCH ₂ CH ₂ OPO ₂ H ₂	57	63	38	71	81	70
H ₂ NCH ₂ CH ₂ CH ₂ OPO ₂ H ₂	29	23	5	4	12	20
H ₂ N(CH ₂) ₆ OPO ₃ H ₂	38	33	10	12	26	30
H ₂ N-C(CH ₃) ₂ -CH ₂ OPO ₃ H ₂	42	36	17	18	37	34

A = *n*-PrOH, NH₃ 25%, H₂O, 6:3:1 [1]; B = *n*-PrOH, NH₃ 25%, 6:4; C = MeOH, NH₃ 10%, ac. trichloracétique, H₂O, 50:15:15:30 [4]; D = NH₃ 25%, MeOH, 2:3; E = NH₃ 25%, MeOH, 1:1; F = NH₃ 25%, MeOH, 3:2.

Fig. 2. *Chromatographie de monoesters aminoalcoylphosphoriques et aminoalcoylphosphoreux*

1 = H₃PO₄, 2 = ac. colaminephosphorique, 3 = ac. colaminephosphoreux, 4 = ac. (amino-3-propyl)-phosphorique, 5 = ac. (amino-6-hexyl)-phosphorique, 6 = ac. (amino-2-isobutyl)-phosphorique. Phase stationnaire: gel de silice WOELM; phase mobile: NH₃ 25%, CH₃OH, 1:1. Quantités déposées: 10 µg. Révélateur: réactif de HANES & ISHERWOOD [1].

3. *Monoesters aminoalcoylsulfuriques*. Dans nos conditions opératoires, la chromatographie de ces esters sur couche mince s'est révélée irréalisable sur des substrats tels que le gel de silice G MÉRCK³⁾, le gel de silice WOELM³⁾, et l'alumine FLUKA⁴⁾. L'alumine neutre WOELM par contre permet la séparation des trois esters étudiés (v. tableau 3), les résultats étant particulièrement favorables avec le mélange MeOH, H₂O, 1:2 (mélange D du tableau 3, v. fig. 3).

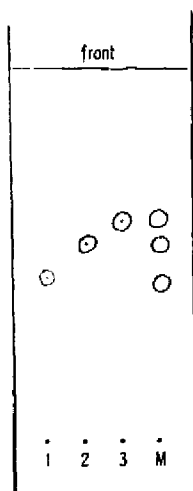
Les chromatoplaques préparées par étalement d'une suspension aqueuse d'alumine neutre WOELM en une couche de 0,25 mm au moyen de l'appareillage de STAHL [3] ont été séchées à l'étuve à 100° pendant env. 30 min. Les taches ont été révélées par la ninhydrine.

Les auteurs remercient sincèrement le FONDS NATIONAL SUISSE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE de l'aide accordée pour ce travail.

⁴⁾ Oxyde d'aluminium FLUKA, type DO, pour chromatographie en couche mince (FLUKA S.A., Buchs, Suisse).

Tableau 3. *Chromatographie sur couche mince d'alumine de monoesters aminoalcoylsulfuriques*

Monoester	Rf × 100 dans solvants (MeOH, H ₂ O)				
	A (9:1)	B (7:3)	C (5:5)	D (1:2)	E (2:8)
H ₂ NCH ₂ CH ₂ OSO ₃ H	1	14	27	44	54
H ₂ NCH ₂ CH ₂ CH ₂ OSO ₃ H	2,5	16	34	53	60
H ₂ N(CH ₂) ₅ OSO ₃ H	4	21	41	59	71

Fig. 3. *Chromatographie de monoesters aminoalcoylsulfuriques*

1 = ac. colaminesulfurique, 2 = ac. (amino-3-propyl)-sulfurique, 3 = ac. (amino-5-pentyl)-sulfurique, M = mélange de 1 + 2 + 3. Phase stationnaire: alumine neutre WoELM; phase mobile: CH₂OH, H₂O, 1:2. Quantités déposées: 10 µg. Révélateur: ninhydrine.

SUMMARY

The separation and identification by thin layer chromatography of the following monoesters is described: alkyl phosphoric, aminoalkyl phosphorus and phosphoric, and aminoalkyl sulphuric monoesters.

Small quantities of phosphoric monomethyl ester are separated from relatively bigger quantities of the ethyl homologue by using the descending paper chromatography technique. This technique is only adequate when the monoester which is present in small quantities has an Rf value higher than that of the ester predominating.

Laboratoires de chimie organique et pharmaceutique
de l'Université de Genève

BIBLIOGRAPHIE

- [1] C. S. HANES & F. A. ISHERWOOD, *Nature* 164, 1107 (1949).
- [2] H. K. ZIMMERMAN & A. COSMATOS, *J. Chromatogr.* 7, 77 (1962).
- [3] E. STAHL, *Chem.-Ztg.* 82, 323 (1958).
- [4] H. SEILER, *Helv.* 44, 1753 (1961).
- [5] L. HÖRHAMMER, H. WAGNER & G. BITTNER, *Der deutsche Apotheker* 14, 148 (1962).