

## Die Isolierung der 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure aus dem Urin unter Verwendung der Keilstreifenmethode

Zur Auftrennung der Phenolsäuren in Urinextrakten wurden bisher neben anderen Trennverfahren<sup>1-5</sup> in der Hauptsache die zweidimensionale Papierchromatographie<sup>6-8</sup> beschrieben. Eine gute Auftrennung der Extrakte zur quantitativen Bestimmung der 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure (Vanilmandelic acid, VMA) erzielten wir mit einer eindimensionalen, absteigenden Papierchromatographie unter Verwendung der Keilstreifenmethode nach MATTHIAS<sup>9</sup>. Als Laufmittel diente die organische Phase

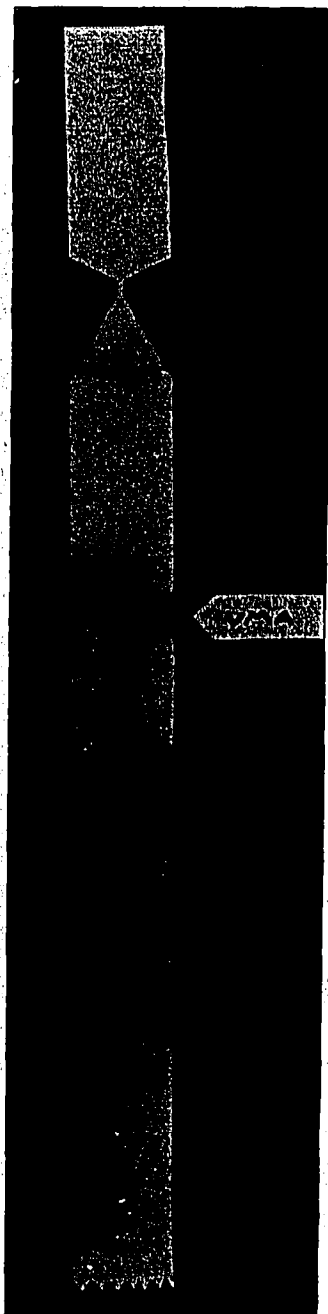


Fig. 1.

des Systems<sup>10</sup> *n*-Butanol-*n*-Butylacetat-10%ige Essigsäure (2:8:10). Zur Chromatographie wurden die Papiere Nr. 2045 bM (Schleicher und Schüll) und FN6 (VEB Spezialpapierfabrik Niederschlag/Erzgebirge) mit gleichgutem Erfolg verwendet (Fig. 1). Die Laufzeit beträgt 15 Stunden. Beim Besprühen mit 10%iger Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und diazotiertem *p*-Nitranilin<sup>6</sup> erscheint die VMA als blauvioletter, beständiger Diazofarbstoff. Die Lokalisation der Säure erfolgt durch Mitführung eines inneren Standards. Dass die in Frage kommende Zone nur aus dem VMA-Diazofarbstoff besteht, wurde wie folgt gesichert:

Der Urinextrakt wird zuerst im System *n*-Butanol-*n*-Butylacetat-10%ige Essigsäure (2:8:10) chromatographiert (Keilstreifen, absteigend). Die Lage der VMA-Zone wird an Hand eines Vergleichschromatogramms reiner VMA bestimmt, ausgeschnitten und mit Methanol eluiert. Der Methanolextrakt wird im System<sup>6</sup> Isopropanol-25% iges Ammoniak-H<sub>2</sub>O (8:1:1) absteigend chromatographiert (Keilstreifen). Nach Anfärbung mit diazotiertem *p*-Nitranilin zeigt sich nur eine Zone. Aus einem Parallelstreifen wird die VMA ohne vorangegangene Farbreaktion eluiert und erneut im System Propionsäure-Benzol-H<sub>2</sub>O (100:75:5) absteigend chromatographiert (Keilstreifen). Nach der Farbreaktion mit diazotiertem *p*-Nitranilin ist auch hier nur eine Zone zu erkennen.

Die Versuche zeigen, dass bereits die erste Chromatographie zur Abtrennung der VMA von anderen Phenolsäuren des menschlichen Urins ausreicht. Bei einer guten Trennwirkung ist der Zeitaufwand der Methode relativ gering. Über die quantitative Bestimmung weiterer aromatischer Säuren im Urin nach diesem Verfahren hoffen wir später berichten zu können.

*Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,  
Institut für Kortiko-Viszerale Pathologie und Therapie,  
Berlin-Buch (Deutschland)*

W. GÖDICKE  
K. H. BROSOWSKI

- <sup>1</sup> M. SANDLER UND C. R. J. RUTHVEN, *Lancet*, II (1959) 114.
- <sup>2</sup> W. VON STUDNITZ UND A. HANSON, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 11 (1959) 101.
- <sup>3</sup> D. KLEIN UND J. M. CHERNAIK, *Clin. Chem.*, 7 (1961) 257.
- <sup>4</sup> M. WILLIAMS UND CH. C. SWEELEY, *Anal. Biochem.*, 2 (1961) 83.
- <sup>5</sup> E. SCHMID UND N. HENNING, *Klin. Wochschr.*, 41 (1963) 566.
- <sup>6</sup> M. D. ARMSTRONG, K. N. F. SHAW UND P. E. WALL, *J. Biol. Chem.*, 218 (1956) 293.
- <sup>7</sup> M. D. ARMSTRONG, A. McMILLAN UND K. N. F. SHAW, *Biochim. Biophys. Acta*, 25 (1957) 422.
- <sup>8</sup> O. KRAUPP, H. STORMANN, H. BERNHEIMER UND H. OBENAU, *Klin. Wochschr.*, 37 (1959) 76.
- <sup>9</sup> W. MATTHIAS, *Naturwiss.*, 43 (1956) 351.
- <sup>10</sup> M. S. KANDRÁČ, *Časopis Lékařů Českých*, 100 (1961) 1402.

Eingegangen am 7. Januar, 1964

*J. Chromatog.*, 15 (1964) 88-89