

- 4 M. FINKELSTEIN AND J. SHOENBERGER, *J. Clin. Endocrinol.*, 19 (1959) 608.
- 5 R. I. COX AND M. FINKELSTEIN, *J. Clin. Invest.*, 36 (1957) 1726.
- 6 Y. A. LEON AND R. D. BULBROOK, *J. Endocrinol.*, 20 (1960) 236.
- 7 S. SHAND, 1961, personal communication.
- 8 R. P. SHEARMAN, R. I. COX AND A. GANNON, *Lancet*, I (1961) 260.
- 9 M. I. STERN, *J. Endocrinol.*, 16 (1957) 180.

Received May 8th, 1968

J. Chromatog., 36 (1968) 344-347

CHROM. 3596

Mise en évidence et dosage de la glutéthimide et de l' α -phénylglutarimide dans les milieux biologiques par chromatographie en phase gazeuse

Aucune des techniques colorimétriques^{1,2}, spectrophotométriques³⁻⁷, fluorimétriques⁸ ou chromatographiques en phase gazeuse^{9,10} jusqu'ici préconisées ne permettait de caractériser et de doser séparément la glutéthimide* et son métabolite le plus important, l' α -phénylglutarimide, sur un même échantillon et au cours d'une même manipulation. Nous rapportons ici les premiers résultats d'une étude portant sur la mise au point d'une telle technique et cela selon des modalités originales.

Experimentation

Extraction. Nous avons utilisé la technique préconisée par GOLDBAUM et coll.⁹

Une partie aliquote de la solution ou de l'homogénat à examiner est extraite par agitation avec un volume déterminé de chloroforme. La phase chloroformique est ensuite lavée avec de petits volumes de NaOH 0.5 N et de H₂SO₄ 0.5 N et évaporée à sec.

Le résidu est repris par 2 ml d'alcool absolu et 5 ml d'hexane. Après addition de 0.5 ml d'eau distillée, la glutéthimide et l' α -phénylglutarimide passent dans la phase alcool-eau. Une partie aliquote de cette phase alcool-eau est ensuite évaporée à sec.

Chromatographie en phase gazeuse

Les conditions opératoires mises au point sont les suivantes:

Appareil: Aerograph HyFi 600 D

Détecteur: Ionisation de flamme

Colonne: verre 8 ft. \times 1/8 in.

Phase stationnaire: XF 1112 8% sur Chromosorb W HMDS 60-80 mesh

Température de la colonne: 195° C

Température injecteur: 250° C

Gaz vecteur: N₂, 25 ml/min.

Étalon interne: 3,3-diéthyl-2,4-dioxypipéridine (Sedulon®)

Volume injecté: 1-5 μ l

* 3-Éthyl-3-phényl-2,6-dioxypipéridine.

J. Chromatog., 36 (1968) 347-350

Vérification de la technique proposée

Appliquant les conditions opératoires précitées, nous avons déterminé les temps de rétention de la glutéthimide, de l' α -phénylglutarimide et du Sédulon® (étalon interne) et nous avons procédé à l'étalonnage. Nous avons ensuite vérifié la validité de la technique proposée tant pour la glutéthimide que pour l' α -phénylglutarimide en opérant sur diverses solutions aqueuses et urinaires de ces deux produits.

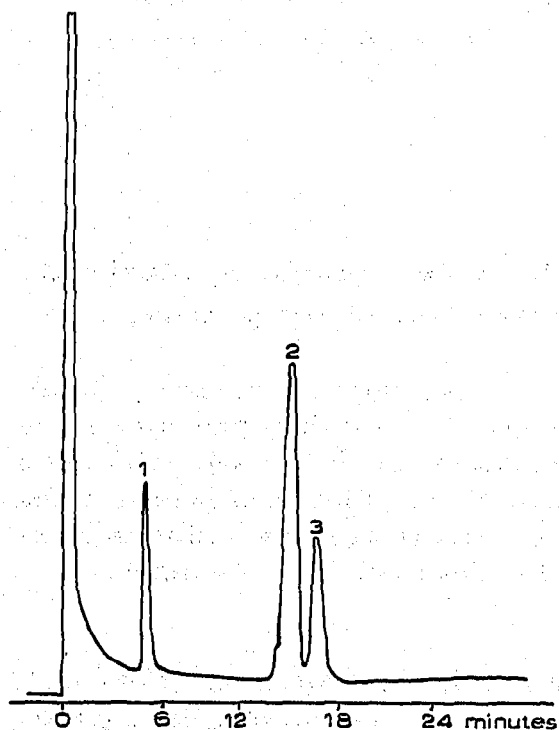


Fig. 1. Pic No. 1: Sédulon®; pic No. 2: glutéthimide; pic No. 3: α -phénylglutarimide.

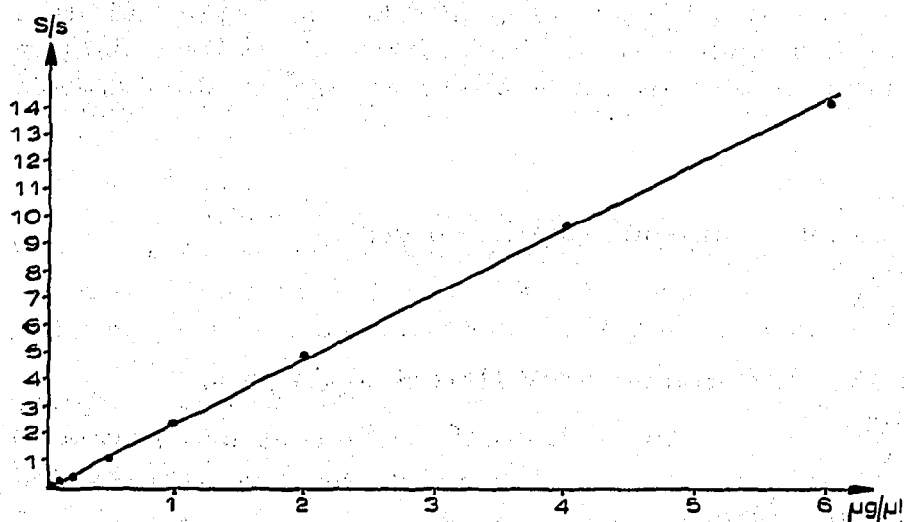


Fig. 2. Courbe d'étalonnage de la glutéthimide. En abscisse; Concentration en $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de la glutéthimide; en ordonnée: S/s, rapports des surfaces des pics de la glutéthimide et de Sédulon®. Concentration en étalon interne: $0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Application de la technique proposée à l'expertise médico-légale

La technique proposée a été appliquée à l'examen toxicologique des viscères d'un jeune homme dont la cause du décès n'était pas déterminée et pour lequel un premier examen toxicologique permettait d'envisager un suicide par glutéthimide (test à l'hydroxylamine-chlorure ferrique, et chromatographie sur couche mince).

Résultats

La Fig. 1, montre la bonne séparation de la glutéthimide et de son métabolite l' α -phénylglutarimide suivant les conditions opératoires préconisées.

Les Figs. 2 et 3 montrent la linéarité de la réponse du détecteur lorsqu'on établit les rapports de la surface du produit à doser à celle de l'étalon pour des quantités croissantes de glutéthimide et d' α -phénylglutarimide en présence d'une concentration constante de Sédulon[®].

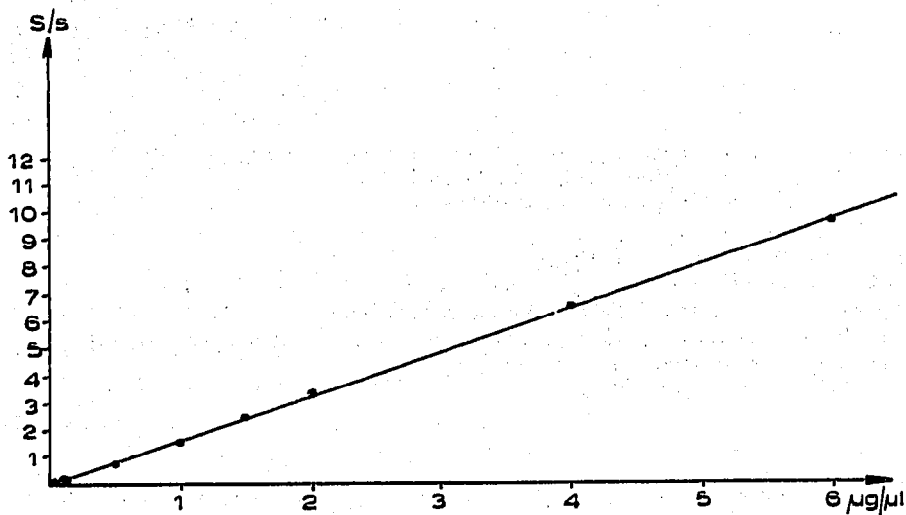


Fig. 3. Courbe d'étalonnage de l' α -phénylglutarimide. En abscisse: Concentration en $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de l' α -phénylglutarimide; en ordonnée: S/s , rapports des surfaces des pics d' α -phénylglutarimide et de Sédulon[®]. Concentration en étalon interne: $0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Les pourcentages moyens de récupération sont de 89% ($\sigma = 4$) pour les solutions aqueuses et de 85% ($\sigma = 4$) pour les solutions dans l'urine.

Enfin, le Tableau I donne la distribution de la glutéthimide et de son métabolite l' α -phénylglutarimide dans les différents viscères examinés au cours de l'expertise médico-légale.

Conclusions

La chromatographie en phase gazeuse sur colonne de XF 1112 permet de séparer et de doser valablement la glutéthimide et son métabolite l' α -phénylglutarimide. L'application de cette technique aux milieux biologiques est possible et présente un intérêt certain dans l'expertise médico-légale.

TABLEAU I

RÉPARTITION DANS L'ORGANISME DE LA GLUTÉTHIMIDE ET DE L' α -PHÉNYLGLUTARIMIDE
(INTOXICATION MORTELLE)

| Viscères | Test hydroxylamine- FeCl ₃ | Chromatographie en phase gazeuse | |
|----------|--|----------------------------------|-----------------------------|
| | | Glutéthimide | α -Phénylglutarimide |
| Sang | + | * | * |
| Urine | + | o | 0.163 mg % ^o ** |
| Cerveau | + | 160.6 mg/kg | o |
| Foie | + | 51.7 mg/kg | o |
| Reins | + (?) | o | o |

* Échantillon insuffisant pour dosage GLC.

** Après hydrolyse enzymatique.

Laboratoire de Toxicologie*, Faculté de Médecine,
Université de Liège, Bd de la Constitution 151,
Liège (Belgique)

M. H. GROSJEAN
A. NOIRFALISE

- 1 H. SHEPPARD, B. S. D'ASARO ET A. J. PLUMMER, *J. Am. Pharm. Assoc.*, 45 (1956) 681.
- 2 C. HEUSGHEM, R. VERSIE ET J. WARIN, *Ann. Med. Leg.*, 39 (1959) 6.
- 3 L. R. GOLDBAUM ET M. A. WILLIAMS, *Ann. Chem.*, 32 (1960) 81.
- 4 E. J. ALGERI, *Am. J. Clin. Pathol.*, 31 (1959) 412.
- 5 E. J. ALGERI ET G. G. KATSAS, *J. Forensic Sci.*, 5 (1960) 217.
- 6 L. R. GOLDBAUM, M. WILLIAMS ET E. H. JOHNSTON, *J. Forensic Sci.*, 7 (1962) 499.
- 7 R. M. DAUPHINAIS ET R. MCCOMB, *Am. J. Clin. Pathol.*, 44 (1965) 440.
- 8 R. P. HAYCOCK, P. B. SHETH ET W. J. MADER, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 49 (1960) 673.
- 9 L. R. GOLDBAUM ET T. J. DOMANSKI, *J. Forensic Sci.*, 11 (1966) 233.
- 10 S. WINSTEN ET D. BRODY, *Clin. Chem.*, 13 (1967) 589.

Reçu le 10 mai 1968

* Directeur: Prof. C. HEUSGHEM.

J. Chromatog., 36 (1968) 347-350