

Empfindlichkeit dieses Reagenz kann erheblich gesteigert werden, wenn man die besprühte Platte kurze Zeit (ca. 4 Min) bei 120° erhitzt. Mit konz. Schwefelsäure färbt sich nur Phentolamin an; die Farbe erscheint sofort beim Besprühen.

Die Farbreaktionen und die Empfindlichkeit der angewandten Sprühmittel sind in den Tabellen II und III angegeben.

Dank

Den Firmen Ciba AG, Wehr (Baden), Dolorgiet, Bad Godesberg und Dr. WINZER, Konstanz, für die freundliche Überlassung der Reinsubstanzen möchten wir auch an dieser Stelle danken.

*Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Bonn,
53 Bonn, Stiftsplatz 12 (Deutschland-D.B.R.)*

S. GOENECHEA

- 1 J. BÄUMLER UND S. RIPPSTEIN, *Pharm. Acta Helv.*, 36 (1961) 382.
- 2 R. DEININGER, *Arzneimittel-Forsch.*, 5 (1955) 472.
- 3 R. MUNIER, *Bull. Soc. Chim. France*, 19 (1952) 852.
- 4 M. NEGWER, *Organisch-chemische Arzneimittel und ihre Synonima*, 3. Auflage, Akademie-Verlag, Berlin, 1966.
- 5 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1967.
- 6 F. REUTER, H. LIEB UND G. WEYRICH, *Gifte und Vergiftungen in der gerichtlichen Medizin*, Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien, 1938.

Eingegangen den 29. April 1968

J. Chromatog., 36 (1968) 375-377

CHROM. 3599

Séparation de quelques acides phénylalcnoïques par chromatographie sur couche mince de leurs anilides

Au cours d'études métaboliques, nous avons été conduits à mettre en évidence les acides benzoïque, cinnamique, phénylacétique, β -phénylpropionique, et 4-phénylbutyrique, de manière sensible et rapide. DE JONGE, VERHAGE ET VAN DER VEN¹ passent en revue les difficultés d'une telle séparation, et proposent une double chromatographie, d'abord sur colonne d'acide silicique pour séparer ces acides en plusieurs groupes, puis sur papier après avoir transformé en anilides chaque groupe ainsi séparé. Nous avons obtenu de bons résultats par chromatographie directe des anilides sur couches minces de polyamide et d'alumine, permettant d'identifier quelques microgrammes de chacun de ces acides. Nous avons appliqué cette méthode à l'identification de ces acides dans l'urine de rat.

J. Chromatog., 36 (1968) 377-380

Reactifs

Polyamide (Macherey, Nagel et Co).
 Alumine G (Merck).
 Chlorure de thionyle (Eastman Kodak).
 Aniline redistillée.
 Acides aromatiques purs pour analyse.

Appareillage

Les couches d'absorbant sont préparées avec l'équipement Desaga. Les chromatogrammes sont observés en lumière U.V. très courte (lampe Mineral Light 2540 Å).

*Mode opératoire**Préparation des anilides*

Nous avons suivi la méthode décrite par DE JONGE, VERHAGE ET VAN DER VEN, qui s'applique très bien à de faibles quantités de l'ordre du milligramme. Chauffer 5 mg d'acide aromatique durant 1 h à 90–100° avec 200 mg de chlorure de thionyle, puis évaporer sous vide, à la température ordinaire, l'excès de réactif; ajouter 2 ml de benzène, puis lentement 200 mg d'aniline dans 3 ml de benzène, et chauffer 1 h à reflux; laver la solution benzénique successivement par l'acide chlorhydrique à 5 %, la soude à 5 %, puis l'eau; évaporer sous vide le benzène, recristalliser dans l'alcool.

Extraction et purification des acides aromatiques à partir de l'urine

20 ml d'urine de rat auxquels on a rajouté 5 mg de chacun des acides en solution dans l'alcool, et 20 ml de la même urine servant de témoin, sont traités identiquement et de la façon suivante. L'urine acidifiée est extraite trois fois par l'éther éthylique. Les extraits sont réunis, concentrés sous vide, puis passés sur colonne d'alumine (alumine pour chromatographie lavée par l'acide chlorhydrique 0.1 N, séchée et activée une nuit à 105°. On élue successivement par l'éther, l'alcool, puis le mélange alcool-eau (1:2). Les trois éluats sont réunis et évaporés sous vide dans un même ballon. Les anilides sont préparés comme il a été décrit plus haut.

Chromatographie sur polyamide. Les anilides en solution dans l'alcool sont déposés à raison de quelques microgrammes, sur plaques (20 × 20 cm) de polyamide séchées 10 min à 80°, lesquelles sont éluées par le mélange toluène-méthanol (10:2.5).

TABLEAU I

CONDITIONS DE CHROMATOGRAPHIE ET RÉSULTATS

| <i>Absorbant</i> | <i>Alumine G (Merck)</i> | <i>Polyamide</i> |
|-------------------------------------|---|---|
| Elution | Hexane-acétate d'éthyle (10:3) | Toluène-méthanol (10:2.5) |
| Détection | U.V. (254 mμ) | U.V. (254 mμ) |
| <i>R_F</i> croissant ↗ | Benzanilide 4-Phénylbutyranilide β-Phénylpropionanilide Cinnamanilide Phénylacétanilide | 4-Phénylbutyranilide β-Phénylpropionanilide Phénylacétanilide Benzanilide Cinnamanilide |

Chromatographie sur alumine. De la même façon les anilides sont déposés sur plaque (20 × 20 cm) d'Alumine G non activée, c'est-à-dire séchée à l'air une nuit à la température ambiante; l'éluion est réalisée par le mélange hexane-acétate d'éthyle (10:3).

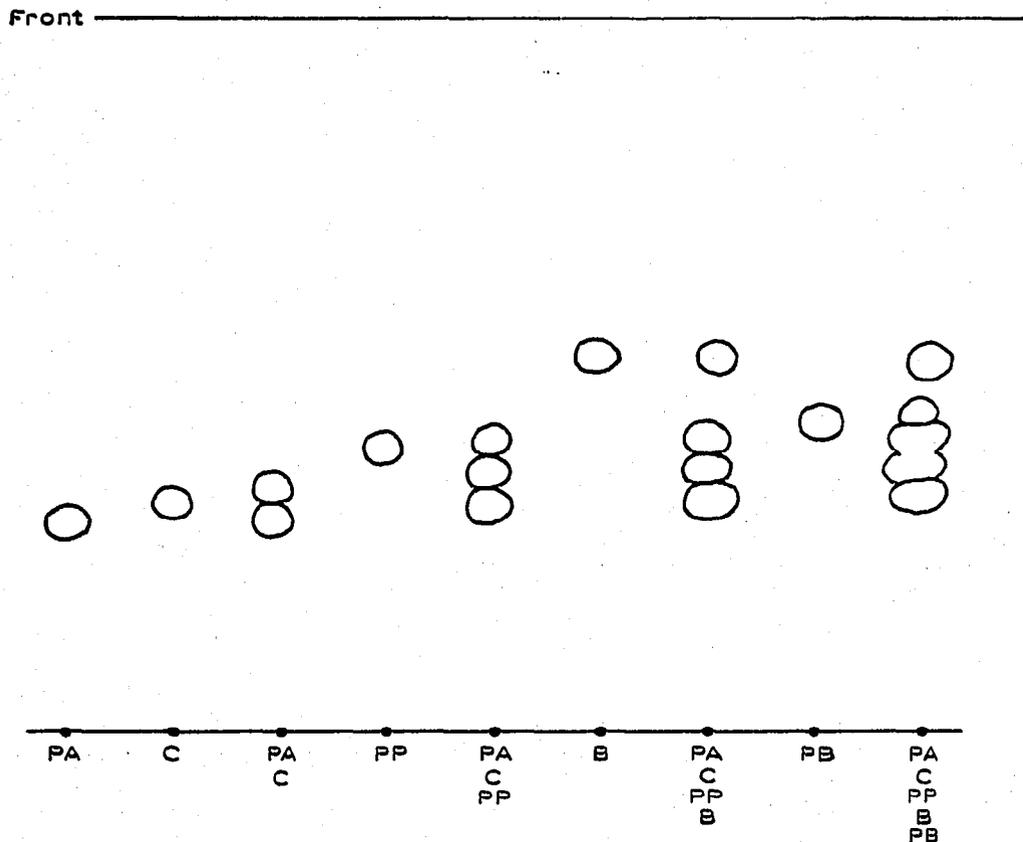


Fig. 1. Chromatographie sur Alumine G. Elution hexane-acétate d'éthyle (10:3). PA = phénylacétanilide; C = cinnamanilide; PP = β -phénylpropionanilide; B = benzanilide; PB = 4-phénylbutyranilide.

Resultats

Après éluion les plaques sont observées sous lumière U.V. (2540 Å). Sur alumine toutes les taches apparaissent en bleu foncé. Sur polyamide le cinnamanilide apparaît en brun, le benzanilide donne une tache très brillante, les autres anilides apparaissant en bleu foncé puis devenant bleu clair au fur et à mesure de l'exposition. Fig. 1 et 2 montrent les résultats obtenus. Tableau I résumé montre que ces deux chromatographies ont l'avantage de donner un ordre de migration différent pour les cinq acides étudiés. La préparation des anilides et leur séparation s'opèrent de la même manière à partir des acides extraits de l'urine, aucune substance ne venant interférer dans la zone de migration des anilides, tant sur polyamide que sur alumine; la chromatographie préalable sur colonne d'alumine élimine une quantité importante des substances interférantes. En utilisant les techniques de microsynthèse, sans doute serait-il possible de préparer les anilides à partir de quantités d'acide inférieures au milligramme et d'abaisser ainsi la limite de détection des acides dans l'urine.

Front

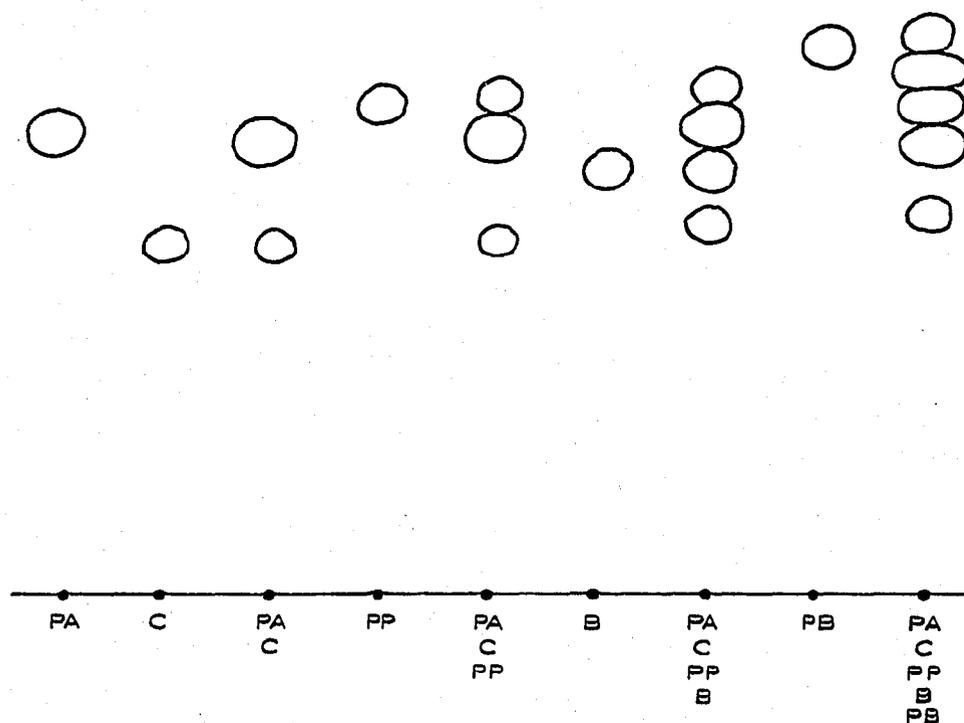


Fig. 2. Chromatographie sur polyamide. Elution toluène-méthanol (10:2.5). PA = phénylacétanilide; C = cinnamanilide; PP = β -phénylpropionanilide; B = benzanilide; PB = 4-phénylbutyranilide.

Remerciements

Nous remercions Mme EVELYNE BIETTE pour sa collaboration technique.

Station Centrale de Nutrition, Centre National de Recherches
Zootechniques, Jouy en Josas, Yvelines (France)

G. F. BORIES

I A. P. DE JONGE, A. VERHAGE ET B. VAN DER VEN, *Rec. Trav. Chim.*, 83 (1964) 949.

Reçu le 13 mai 1968

J. Chromatog., 36 (1968) 377-380