

for example, 5α - and 5β -androstandione-3,17-dione, 5α - and 5β -pregnandione-3,20-dione and 3α -hydroxy- 5β - and 3β -hydroxy- 5α -pregnan-20-one¹.

Preliminary experiments established that many of the pairs of closely related steroids could be resolved by repeated development on thin-layer plates in solvents of low polarity, for example, cyclohexane with up to 10% v/v of cyclohexanone, acetone or ethyl acetate. Solvents whose polarities had been increased by increasing the proportions of the more polar constituents showed reduced resolving power and were less satisfactory. Where solvents of increased polarity were required it was found advantageous to substitute cyclohexene for cyclohexane. As shown in Table I, solvent mixtures of cyclohexene and cyclohexanone have been used to resolve a number of pairs of closely related steroids of interest in this laboratory. Mixtures of cyclohexene with acetone or ethyl acetate have also been used. Although the disadvantages which accompany use of the high boiling cyclohexanone are thereby avoided, the resolving power of these solvents with some steroid mixtures was inferior to that of the cyclohexene-cyclohexanone systems.

Acknowledgements

This work forms part of the programme of the Marine Laboratory of the Department of Agriculture and Fisheries for Scotland. Gifts of steroid samples from the Medical Research Council Steroid Reference Collection are acknowledged.

Marine Laboratory, Department of Agriculture and Fisheries
for Scotland, Aberdeen (Great Britain)

R. S. WRIGHT

- 1 E. HEFTMANN (Editor), *Chromatography*, 2nd Ed., Reinhold, New York, 1967, p. 559.
- 2 T. H. SIMPSON, R. S. WRIGHT AND S. M. V. HUNT, *J. Endocrinol.*, in press.
- 3 R. J. GRITTER AND R. J. ALBERS, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 392.
- 4 D. KRITCHEVSKY AND M. R. KIRK, *Arch. Biochem. Biophys.*, 35 (1952) 346.
- 5 E. HEFTMANN, S.-T. KO AND R. D. BENNETT, *J. Chromatog.*, 21 (1966) 490.

First received May 30th, 1968; modified July 8th, 1968

J. Chromatog., 37 (1968) 363-364

CHROM. 3702

Un nouveau mode de détection, sur couches minces, des amides substituées

Les amides aliphatiques substituées peuvent être détectées par pulvérisation, soit de sulfate acide d'ammoniaque (suivie de chauffage), soit d'une solution d'iode, soit de techniques plus particulières dans le cas spécial des urées¹.

La méthode que nous proposons consiste dans la pulvérisation successive d'une solution de dinitrophénylhydrazine (DNPH) et d'une solution d'iode.

L'action préalable du DNPH augmente très nettement les limites de détection de l'iode utilisé seul (cf. Tableau I) et, de plus, rend ce processus spécifique. En effet, sur le fond jaune obtenu par la pulvérisation du DNPH l'iode ne met pratiquement

J. Chromatog., 37 (1968) 364-365

plus en évidence que les amides substituées. Les colorations obtenues, pour de nombreux lipides, par l'utilisation de l'iode seul, sont masquées.

Partie expérimentale

Le travail est effectué en chromatographie ascendante sur plaques Merck préparées D.C.F. 254, épaisseur de silica gel 250 μ .

L'agent de développement est un mélange en volume de 40 parts de cyclohexane, 40 parts d'isopropanol et 20 parts d'acétate d'éthyle.

Dans ce milieu, les valeurs R_F des amides examinées varient pour la plupart de 0.4 à 0.7.

La solution de DNPH dans l'éthanol contient 0.1 g de 2,4-dinitrophénylhydrazine p.a. de Fluka et 10 ml d'HCl concentré (dté 1.19) p.a. de UCB pour un volume de 100 ml.

La solution d'iode contient 1 g d'iode bisublimé de UCB pour 100 ml de méthanol.

TABLEAU I

LIMITES DE DÉTECTION COMPARÉES SUR COUCHES MINCES DÉVELOPPÉES

<i>Amides substituées</i>	<i>Détection par I₂ seul (γ)</i>	<i>Détection par DNPH puis I₂ (γ)</i>
N-Diéthylacétamide	4	2
N-Dibutylacétamide	4	0.5
N-Dibutylpropionamide	5	1
N-Dibutylbutyramide	5	0.6
N,N'-Tétrabutylsuccinamide	4	1
N-Dibutylundécánamide ^a	4	2
N-Dibutylbenzamide	6	1
N-Méthylformamide	80	40
N-Méthylacétamide	30	20
N-Butylacétamide	20	10
N-Butylpropionamide	8	2
N-Butylbutyramide	6	2
N,N'-Dibutylsuccinamide	8	3
N-Butylundécánamide	4	1
N-Butylbenzamide	6	1

^a Dans le cas de l'utilisation du sulfate acide d'ammoniaque, cette limite est de 6 γ pour la N-dibutylundécánamide.

Le mode d'application est le suivant: après avoir pulvérisé la solution de DNPH on chauffe la couche mince à 110° pendant 2 min; après refroidissement, on pulvérise la solution d'iode. La position des amides substituées est révélée en quelques secondes par l'apparition de taches brun foncé sur fond jaune pâle.

Union Carbide E.R.A.,
Bruxelles (Belgique)

S. VANDENBRANDEN
C. MOUSSEBOIS

1 C. DiBELLO ET E. CELON, *J. Chromatog.*, 31 (1967) 77.

Reçu le 12 juillet 1968