

ANALYTICKÉ STANOVENIE *l*-FENYLACETYLKARBINOLU

O. BAUEROVÁ, Š. BAUER

Oddelenie farmaceutickej chémie a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Štúdiom analytického stanovenia *l*-fenylacetylkarbinolu v tzv. „surovom ketole“, získaného biochemickou cestou podľa C. Neuberga [1], zaoberali sa L. Molnár s Š. Bauer [2], ktorí stanovili *l*-fenylacetylkarbinol optickou otáčavosťou, oscilopolarograficky, titračnou oximačnou metódou na skupinu —CO— a polarograficky.

Priame polarografické stanovenie *l*-fenylacetylkarbinolu opísal M. Fedoroňko [3].

Pretože surový ketol je zmes rozličných látok [4], videli sme v použití papierovej chromatografie ďalšiu možnosť rozšírenia analytických metód na stanovenie *l*-fenylacetylkarbinolu.

Papierovou chromatografiou *l*-fenylacetylkarbinolu sa zaoberal K. Macek [5] tým spôsobom, že *l*-fenylacetylkarbinol chromatografoval vo forme 2,4-dinitrofenylhydrazónu. Táto metóda sa však nedá využiť na kvantitatívne stanovenie, pretože 2,4-dinitrofenylhydrazón nevzniká z *l*-fenylacetylkarbinolu kvantitatívne [6].

Výhodnejšie je teda stanoviť *l*-fenylacetylkarbinol ako taký a vhodným systémom rozpúšťadiel dosiahnuť jeho oddelenie od metylbenzoylkarbinolu, acetylbenzoylu a benzaldehydu.

V literatúre opísané detekčné činidlá pre látky s karbonylovou skupinou [7] sa ukázali nevhodné pre kvantitatívne vyhodnocovanie.

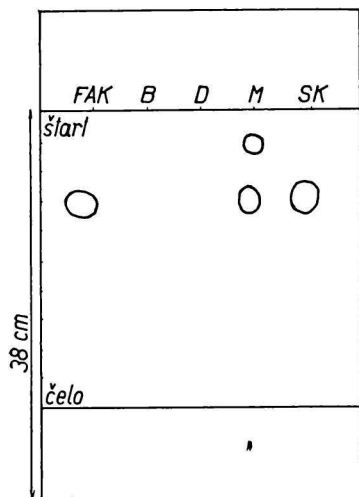
Dobré výsledky poskytli alkalické roztoky tetrazóliových solí, ktoré na detekciu α -ketoalkoholov použili J. C. Touchston a Chien-Tien-Hsu [8].

Toto činidlo dávalo kontrastné farebné škvrny (na ružovom poklade intenzívne fialové škvrny) s fenylacetylkarbinolom, kým s benzaldehydom a acetylbenzoylom nereagovalo. *l*-Fenylacetylkarbinol možno takto detegovať už v množstve $5 \cdot 10^{-6}$ g.

Otázke vhodného systému rozpúšťadiel, ktorý by dostatočne oddeľoval *l*-fenylacetylkarbinol od metylbenzoylkarbinolu, bolo treba venovať viac pozornosti. Vzhľadom na rozpustnosť *l*-fenylacetylkarbinolu v benzéne použili sme ako mobilnú fázu zmes benzén—petroléter. Tento systém sa nedal použiť na kvantitatívne vyhodnotenie.

Preskúšali sme preto rozličné vyššie alkoholy v systémoch alkohol—voda vo forme tzv. „obrátenej fázy“. Za najvhodnejší považujem systém *izoamylalkohol* sýtený vodou, ktorý jediný vyhovuje z hľadiska rozdeľovacej schopnosti i z hľadiska kvantitatívneho vyhodnotenia chromatogramu (pozri chromatogram 1).

Kvantitatívne stanovenie sa vykonalo metódou premeriavania negatívov po sfotografovaní chromatogramov pomocou fotometra podľa B. Keila [9],



Chromatogram 1.

FAK = *l*-fenylacetylkarbinol, B = benzaldehyd,
D = acetylbenzoyl, M = metylbenzoylkarbinol,
SK = surový ketol.

Impregnácia: *izoamylalkohol* sýtený vodou.

Systém: voda sýtená *izoamylalkoholom*.

Doba: 22 hodín.

Teplota: 20 °C.

l-Fenylacetylkarbinol má $R_F = 0,34$, metylbenzoylkarbinol má $R_F = 0,12$.

pričom bolo potrebné použiť farebné negatívy, aby sa dosiahla vysoká kontrastnosť. Namerané hodnoty uvádzame v tab. 1.

Tabuľka 1

Návažok 10 ⁻⁶ g	Plocha (cm ²)				Priemerná plocha (cm ²)	Chyba (%)	
	meranie <i>a</i>	meranie <i>b</i>	meranie <i>c</i>	meranie <i>d</i>		—	+
10	5,32	5,68	5,70	5,28	5,49	3,82	3,82
30	16,38	16,68	16,86	16,27	16,55	1,69	1,87
40	21,66	22,35	21,72	21,96	21,92	1,18	1,94
50	27,09	28,61	27,98	27,82	27,87	3,15	2,71
70	39,87	38,52	38,77	37,12	38,57	3,84	3,37

V intervale od 10 · 10⁻⁶ do 70 · 10⁻⁶ g je lineárna závislosť medzi množstvom *l*-fenylacetylkarbinolu a plochou označenou splanimentovaním kriviek fotometrického premeriavania negatívov, pričom rozptyl je v medziach ±5 %.

Experimentálna časť

Ako základná látka sa použil *l*-fenylacetylkarbinol s b. v. $t_{12} = 124$ °C, $[\alpha]_D^{20} = -182$ ° (4 % etylalkohol) a racemický metylbenzoylkarbinol, ktorý obsahoval ca 75 % fenylacetylkarbinolu.

Rozpúšťadlá použité pri chromatografovaní

Benzén: neobsahujúci tiofén.

Petroléter: frakcia 40—60 °C.

Ostatné rozpúšťadlá boli čistoty p. a.

Reagencie

2,4-Dinitrofenylhydrazín: nasýtený roztok 2,4-dinitrofenylhydrazínu v 2 N-HCl.

Tetrazóliová modrá: 0,2 % vodný roztok 2,2'-*p*-(di-*o*-metoxy)-difenyln-3,3',5,5'-tetrafenylditetrazóliumchloridu s 2 N-NaOH v pomere 1 : 1.

Príprava papiera

Na papier Whatman 1 o veľkosti 38 × 15 cm sa 11 cm od horného okraja vyznačí ceruzkou štartovná čiara, na ktorú sa vo vzdialenosti 3 cm vybodkujú jednotlivé miesta nanášok. Z roztoku 0,001 g látky v 0,5 ml etylalkoholu sa vzorka nanáša mikropipetou pod dusíkom na štart (aby sa zamedzila prípadná oxydácia ketolu) tak, aby priemer dvorca nanášky nepresahoval 0,5 cm. Papier sa naimpregnuje organickou fázou a medzi niekoľkými filtračnými papiermi sa pomocou gumového valčeka vylišuje.

Chromatografia

Chromatografická komora sa 24 hod. sýti organickou a vodnou fázou, potom sa do nej hneď po nanášaní zavesí do skleneného žliabka chromatogram a chromatografuje sa postupne 8—26 hod. pri teplote 20 ± 2 °C.

Detekcia

Po vybraní z komory sa papier 25 minút suší pri teplote 50 °C a v závese sa postrieka detekčným činidlom. Potom sa preniesie na sklenú dosku a 3 minúty sa vymýva prúdiacou vodou. Napokon sa pri laboratórnej teplote usuší.

Získanie negatívu

Takto získaný chromatogram sa sfoťografuje na opálovom okienku v priesvite na farebný film. (Fotoaparát značky „Praktina“; objektív Biotar 1 : 2 F = 58 mm; negatív: Agfacolor K, citlivosť 17/20 DIN; expozícia: 1 sekunda pri clone 5,6; priesvit dvoma 100 W žiarovkami; film vyvolaný vývojkou Agfacolor Negativentwickler.)

Premeriavanie negatívov a planimetovanie

Negatívy sa premerajú mikrofotometrom Zeiss-Jena (Schnell-fotometer II), jednotlivé hodnoty sa nanesú na milimetrový papier a plocha ohraničená vzniknutými krivkami sa zmeria kompenzačným planimetrom Reiss.

Za prípravu základných látok vyslovujeme vďaka inž. Š. Országhovi a inž. L. Maslerovi, za zhotovenie negatívov K. H. Gürthovi a za pomoc pri experimentálnych prácach A. Slezárikovi.

Súhrn

Vypracovala sa metóda stanovenia *l*-fenylacetylkarbinolu papierovou chromatografiou v surovom biochemickom cestou získanom „ketole“; použil sa systém izoamylalkohol—voda v obrátenej fáze a detekcia tetrazóliovou modrou. V intervale od $10 \cdot 10^{-6}$ do $70 \cdot 10^{-6}$ g sa získala lineárna závislosť medzi množstvom *l*-fenylacetylkarbinolu a plochou získanou splanimetrovaním krivky fotometrického premerania negatívu s rozptylom v medziach ± 5 %.

АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ *l*-ФЕНИЛАЦЕТИЛКАРБИНОЛА

О. БАУЭРОВА, Ш. БАУЭР

Отделение фармацевтической химии и биохимии Химического института Словацкой Академии Наук в Братиславе

Выводы

Разработан метод определения *l*-фенилацетилкарбинола хроматографией на бумаге в сыром, биохимическим путем приобретенным, «кетоле» в системе изоамиловый спирт—вода в обращенной фазе при применении тетразолиевого синнего как проявителя. В интервале $10 \cdot 10^{-6}$ — $70 \cdot 10^{-6}$ г приобретенная прямолинейная зависимость между количеством *l*-фенилацетилкарбинолом и площадью приобретенной планиметрическим измерением кривой, которая была приобретенная фотометрическим измерением негатива с разбросом в пределах $\pm 5\%$.

Поступило в редакцию 20. 12. 1957 г.

ANALYTISCHE BESTIMMUNG VON *l*-PHENYLACETYLCARBINOL

O. BAUEROVÁ, Š. BAUER

Abteilung für pharmazeutische Chemie und Biochemie des Chemischen Instituts an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

Es wurde eine Methode zur Bestimmung von *l*-Phenylacetylcarbinol mittels Papierchromatographie ausgearbeitet, u. zw. in rohem, auf biochemischem Wege erhaltenen „KetoI“, im System *Isoamylalkohol*—Wasser in umgekehrter Phase für die Verwendung der Sichtbarmachung mittels Tetrazoliumblau. Im Intervall von $10 \cdot 10^{-6}$ bis $70 \cdot 10^{-6}$ g erhält man eine lineare Abhängigkeit zwischen der Menge des *l*-Phenylacetylcarbinols und einer Fläche, welche durch Planimetrieren der Kurve der photometrischen Messung des Negativs mit einer Streuung in den Grenzen von $\pm 5\%$ erhalten wurde.

In die Redaktion eingelangt den 20. 12. 1957

LITERATÚRA

1. Neuberg C., Biochem. Z. 128, 610 (1922). — 2. Molnár L., Bauer Š., Chem. zvesti 7, 289 (1953). — 3. Fedoroňko M., Chem. zvesti 12, 17 (1958). — 4. Bauer Š., Országh Š., Masler L., Chem. zvesti 10, 426 (1956). — 5. Macek K., nepublikované. — 6. Masler L., Diplomová práca, Bratislava 1957. — 7. Hais I. M., Macek K., *Papírová chromatografie*, Praha 1954, 487. — 8. Touchston J. C., Chien-Tien-Hsu, Anal. Chem. 27, 1517 (1955). — 9. Keil B., Chem. listy 48, 725 (1954).

Došlo do redakcie 20. 12. 1957