ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA
VOL. XLIII, 6 SECTIO D 1988

Zakład Chemii Podstawowych. Katedra Chemii Ogólnej. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Jerzy Iskierko

Edmund PYRA, Jerzy ISKIERKO

Porównawcza analiza chromatograficzna DANS-, DABS- i DABTC-pochodnych monoamin biogennych

Хроматографический сравнительный анализ DANS-, DABS- и DABTC-производных биогенных моноамидов

The Comparative Chromatographic Analysis of DANS-, DABS- and DABTC-derivatives of the Biogenic Monoamines

Termin „aminy biogenne" użyty został po raz pierwszy przez Guggeheima (5) w r. 1920 w celu opisania dużej grupy związków o właściwościach zasadowych, występujących w przyrodzie i posiadających pewne cechy wspólne.

Dzięki postępowi techniki analitycznej wykryto wiele amin, takich jak poliaminy (1), fenyloalkiloaminy (9), indoloaminy czy imidazoloaminy (10). Szybki rozwój badań poświęconych aminom biogennym był spowodowany odkryciem bardzo aktywnych monoamin, takich jak histamina, serotonina, epinefrina, oktopaminy, tyraminy (7), w szczególności zaś faktem, że niektóre z tych amin odgrywają zasadniczą rolę w funkcjonowaniu centralnego i obwodowego układu nerwowego (2, 6, 8).

Fizykochemiczne własności wolnych amin, ich charakter polarny, labilność oraz śladowe ilości, w jakich występują w materiale biologicznym, a co z tym się wiąże, niska czułość detekcji stwarzają znaczne trudności w analizowaniu tych związków. W związku z tym celem przedstawionej pracy było:

1. Uzyskanie za pomocą DANS-Cl N'-sulfonamidowych pochodnych niektórych monoamin biogennych. Zbadanie możliwości zastosowania do analizy amin biogennych DABS-Cl oraz DABITC.

2. Zbadanie możliwości rozdziału za pomocą chromatografii cienkowarstwowej uzyskanych pochodnych o zmienionych i korzystnych właściwościach fizykochemicznych.

3. Zbadanie i określenie wpływu N- lub N'- podstawionych rodników w sulfonoamidowych i tiomocznikowych pochodnych na wielkość ich wartości R_F.

Przeprowadzone badania zmierzały do optymalizacji procesów chromatograficznego rozdziału niektórych amin biogennych w postaci ich pochodnych o zmniejszonej polarności i znacznie większej cząsteczce. Dążono do opraco-

wania możliwie prostej i szybkiej metody rozdziału i identyfikacji otrzymanych pochodnych niektórych amin biogennych w celu zastosowania jej w praktyce, w laboratoriach chemicznych i klinicznych.

Do badań użyto 8 monoamin biogennych: 1) β-fenyloetyloaminę (β-PEA), 2) *p*-tyraminę (TA), 3) *p*-oktopaminę (OCT), 4) dopaminę (DA), 5) noradrenalinę (NA), 6) adrenalinę (A), 7) histaminę (HI), 8) serotoninę (5-HT). W budowie cząsteczek tych amin powtarza się stały fragment — etyloamina, w której wodory przy węglu β są zastąpione różnymi podstawnikami. Są to aminy I-rzędowe, z wyjątkiem adrenaliny, która należy do amin II-rzędowych.

Do derywatyzacji tych amin zastosowano: chlorek 5-N,N-dimetyloaminonafteleno-1-sulfonylu — chlorek dansylu (DANS-Cl) (11), chlorek 4-N,N-dimetyloaminoazobenzeno-4'-sulfonowy — chlorek dabsylu (DABS-Cl) (12) i 4-N,N-dimetyloaminoazobenzeno-4'-izotiocyjanian — DABITC (3).

BADANIA WŁASNE

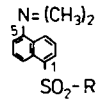
Materiały i metody

W badaniach stosowano następujące odczynniki i reagenty: 8 amin biogennych — β-fenyloetyloaminę — firmy BDH Chemicals Ltd, Anglia, *p*-tyraminę — firmy Park Scientific Ltd, Anglia, *p*-oktopaminę — firmy Sigma, USA, dopaminę — firmy Park Scientific Ltd, Anglia, noradrenalinę — firmy Riker Laboratories, Anglia, adrenalinę — firmy Riker Laboratories, Anglia, histaminę — firmy Fluka AG, CH-9470 Buchs, serotoninę — firmy Sigma, USA, 4-N,N-dimetyloaminoazobenzeno-4'-sulfonylu chlorek cz.d.a. (DABS-Cl) — firmy POCH Gliwice, 5-N,N-dimetyloamino-1-naftylosulfonylu chlorek cz.d.a. — (DANS-Cl) firmy Serva USA, 4-N,N-dimetyloaminoazobenzeno-4'-izotiocyjanian (DABITC) — producent Zakład Chemii Podstawowych AM w Lublinie, aceton cz.d.a. — POCH Gliwice, benzen cz.d.a. — POCH Gliwice, roztwór buforowy o *pH* 8,9, roztwór buforowy o *pH* 9,65, *n*-heptan — POCH Gliwice, octan etylu — POCH Gliwice.

Otrzymywanie 5-N,N-dimetyloamino-1-naftalenosulfonoamidów (DANS-amidów) analizowanych monoamin biogennych

Aminy β-PEA, TA, OCT, DA, NA, A, HI i 5-HT w ilościach po 100 μmoli każda rozpuszczano w roztworze buforowym o *pH* 8,9. Następnie do każdej aminy dodano po 100 μmoli DANS-Cl, który rozpuszczono w 25 cm^3 acetonu. Mieszaninę umieszczono w wytrząsarce i inkubowano w ciemności przez 2 godz. w temp. 14–15°C. W mieszaninach reakcyjnych korygowano *pH* do wartości 8,9. Z mieszaniny poreakcyjnej aceton usunięto za pomocą strumienia azotu, a z pozostałości DANS-amidy ekstrahowano 3-krotnie po 5 cm^3 benzenu. Następnie strumieniem azotu benzen odparowano do sucha. DANS-amidy przechowywano w eksykatorze próżniowym nad bezwodnym chlorkiem wapnia. Otrzymano następujące DANS-amidy, których wzory chemiczne zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Wykaz otrzymanych DANS-amidów
A list of obtained DANS-amides



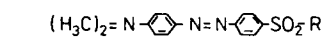
NR	NAZWA ZWIĄZKU	OZNACZ. SKRÓTOWE	R
1.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(FENETYLO-α)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-β-PEA	-HN-CH2-CH2-⟨⟩
2.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(4'-HYDROKSYFENETYLO-α)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-TA	-HN-CH2-CH2-⟨⟩-OH
3.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(4'-HYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-OCT	-HN-CH2-CH(OH)-⟨⟩-OH
4.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(3',4'-DIHYDROKSYFENETYLO-α)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-DA	-HN-CH2-CH2-⟨⟩(OH)-OH
5.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(3',4'-DIHYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-NA	-HN-CH2-CH(OH)-⟨⟩(OH)-OH
6.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-METYLO-N'-(3',4'-DIHYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-A	-N(CH3)-CH2-CH(OH)-⟨⟩(OH)-OH
7.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(IMIDAZOLILO-4-ETYLENO)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-HI	-HN-CH2-CH2-⟨N,N,H⟩
8.	5-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(5'-HYDROKSYINDOLILO-3'-ETYLENO)-1-NAFTALENOSULFONOAMID	DANS-5-HT	-HN-CH2-CH2-⟨N,H⟩-OH

Otrzymywanie 4'-N,N-dimetyloaminoazobenzeno-4-sulfonoamidów (DABS-amidów) analizowanych monoamin biogennych

Aminy β-PEA, TA, OCT, DA, NA, A, HI i 5-HT w ilościach po 100 μmoli każda rozpuszczano w roztworze buforowym o *pH* 8,9. Do każdego roztworu aminy dodano po 100 μmoli DABS-Cl rozpuszczonego w 40 cm^3 acetonu. Mieszaniny reakcyjne ogrzewano przez 10 min. w temp. 60–65°C tak, aby aceton częściowo odparował. Resztę rozpuszczalnika usunięto za pomocą strumienia azotu, a z pozostałości DABS-amidy ekstrahowano 3-krotnie, używając po 4 cm^3 acetonu. Następnie aceton strumieniem azotu odparowano do sucha.

DABS-amidy przechowywano w eksykatorze próżniowym nad bezwodnym chlorkiem wapnia. Otrzymano następujące DABS-amidy, których wzory chemiczne zestawiono w tab. 2.

Tab. 2. Wykaz otrzymanych DABS-amidów
A list of obtained DABS-amides



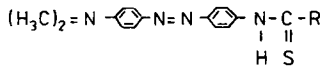
NR	NAZWA ZWIĄZKU	OZNACZ. SKRÓTOWE	R
1.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(FENETYLO-α)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-β-PEA	-HN-CH_2-CH_2-
2.	4'-N,N-DYMETYLOAMINO N'-(4'-HYDROKSY-FENETYLO-α)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-TA	-HN-CH_2-CH_2- OH
3.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(4'-HYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-OCT	-HN-CH_2-CH(OH)- OH
4.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(3',4'-DIHYDROKSY-FENETYLO-α)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-DA	-HN-CH_2-CH_2- OH, OH
5.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(3',4'-DIHYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-NA	-HN-CH_2-CH(OH)- OH, OH
6.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-METYLO-N'-(3',4'-DIHYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-A	-N(CH_3)-CH_2-CH(OH)- OH, OH
7.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(IMIDAZOLILO-4'-ETYLENO)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID	DABS-HI	-HN-CH_2-CH_2- N, N, H
8.	4'-N,N-DIMETYLOAMINO N'-(5'-HYDROKSY-INDOLILO-3'-ETYLENO)-AZOBENZENO-4-SULFONOAMID.	DABS-5-HT	-HN-CH_2-CH_2- OH, N, H

Otrzymywanie N-(4'-N,N-dimetyloaminoazobenzeno)-N'-tiomoczników (DABTC) analizowanych monoamin biogennych

W kolbach okrągłodennych o pojemności 50 cm^3, zaopatrzonych w chłodnice zwrotne, umieszczono aminy: β-PEA, TA, OCT, DA, NA, A, HI i 5-HT w ilościach po 100 μmoli każda i rozpuszczono je w roztworze buforowym o *pH* 9,65. Do każdej kolbki dodano po 100 μmoli DABITC rozpuszczonego w 20 cm^3 acetonu. Mieszaniny reakcyjne ogrzewano przez 60 min. w temp. 65–70°C.

Aceton usunięto z mieszaniny poreakcyjnej za pomocą strumienia azotu, a z pozostałości otrzymane DABTC ekstrahowano 3-krotnie 7 cm^3 roztworu *n*-heptan + octan etylu + aceton — 2:1:0,5 [v/v]. Następnie rozpuszczalniki odparowano do sucha strumieniem azotu. Tiomocznikowe pochodne DABTC przechowywano w eksykatorze próżniowym nad bezwodnym chlorkiem wapnia. Otrzymano następujące DABTC-tiomocznikowe pochodne, których wzory chemiczne zestawiono w tab. 3.

Tab. 3. Wykaz otrzymanych DABTC
A list of obtained DABTC



NR	NAZWA ZWIĄZKU	OZNACZ. SKRÓTOWE	R
1.	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(FENETYLO-α)-TIOMOCZNIK	DABTC-β-PEA	-HN-CH_2-CH_2-
2.	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(4-HYDROKSYFENETYLO-α)-TIOMOCZNIK	DABTC-TA	-HN-CH_2-CH_2- OH
3.	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(4'-HYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-TIOMOCZNIK	DABTC-OCT	-HN-CH_2-CH OH OH
4.	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(3',4'-DIHYDROKSYFENETYLO-α)-TIOMOCZNIK	DABTC-DA	-HN-CH_2-CH_2- OH OH
5	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(3',4'-DIHYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-TIOMOCZNIK	DABTC-NA	-HN-CH_2-CH OH OH OH
6	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-METYLO-N'-(3',4'-DIHYDROKSY-β-HYDROKSYFENETYLO-α)-TIOMOCZNIK	DABTC-A	-N-CH_2-CH OH CH_3 OH OH
7.	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(IMIDAZOLILO-4'-ETYLENO)-TIOMOCZNIK	DABTC-HI	-HN-CH_2-CH_2- N H
8.	N-(4'-N,N-DIMETYLOAMINOAZOBENZENO)-N'-(5'-HYDROKSYINDOLILO-3'-ETYLENO)-TIOMOCZNIK	DABTC-5-HT	-HN-CH_2-CH_2- OH N H

Otrzymane pochodne analizowano metodą chromatografii cienkowarstwowej, stosując adsorbenty firmy Merck — D.C. Alufolien Kieselgel 60 F254. Chromatogramy rozwijano metodą chromatografii wstępującej na dystansie 16 cm, w stałej temp. 23–24°C. Do rozdzielania i identyfikacji otrzymanych DANS- i DABS-amidów oraz DABTC-tiomoczników zastosowano i prze-

badano łącznie 81 układów rozpuszczalników, w tym 34 układy nie cytowane w piśmiennictwie. Układy te zestawiono w tab. 4.

DANS-amidy lokalizowano za pomocą naświetlania promieniami UV. Substancje te widoczne były w postaci intensywnie świecących żółtozielonych plamek. DABS-amidy — w postaci pomarańczowych plamek, a DABTC-

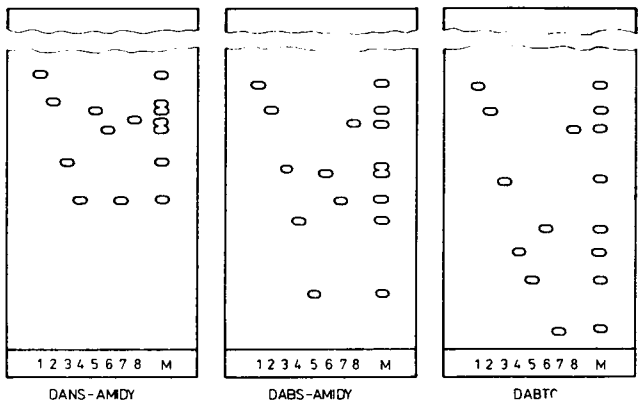
Tab. 4. Układy rozpuszczalników stosowanych w metodzie TLC do rozdzielania DANS- i DABS-amidów oraz DABTC
Systems of dissolvents applied in TLC method for separating DANS- and DABS-amides and DABTC

Nr	Klasa wg Pimentela i McClellmna	Układy rozpuszczalników	Stosunki objętościowe roztworu
1	B	Octan *n*-propylu	
2		Octan *n*-butylu	
3		Octan *n*-amylu	
4	A + B	Octan *n*-butylu – keton izobutylowometylowy	1:1
5		Octan *n*-butylu – keton izobutylowometylowy	5:1
6		Octan *n*-butylu – keton etylowometylowy	5:1
7		Octan *n*-butylu – keton metylowopentylowy	1:1
8		Octan *n*-butylu – keton metylowopentylowy	5:1
9		Octan *n*-butylu – keton metylowobutylowy	1:1
10		Octan *n*-butylu – keton metylowobutylowy	5:1
11	B + N	Cykloheksan – octan *n*-propylu	1:3
12		Cykloheksan – octan *n*-propylu	1,5:3
13		Cykloheksan – octan *n*-propylu	2:3
14		Cykloheksan – octan *n*-propylu	8:3
15		Cykloheksan – octan *n*-propylu	1:1
16		*n*-Heksan – aceton	4:5
17		*n*-Heksan – aceton	5:5
18		Cykloheksan – octan *n*-amylu	2:3
19		Cykloheksan – octan *n*-amylu	1:1
20		Cykloheksan – octan *n*-amylu	2:1
21		Cykloheksan – octan *n*-amylu	1:2
22	B + N	Octan *n*-propylu – benzen	10:1,5
23		Octan *n*-butylu – benzen	10:1,5
24		Octan *n*-amylu – benzen	10:1,5
25		Octan *n*-propylu – benzen	1:4
26		Octan *n*-butylu – benzen	1:2
27		Octan *n*-amylu – benzen	1:1
28	AB + B + N	Octan *n*-propylu – benzen – kwas octowy	10:1,5:1
29		Octan *n*-propylu – benzen – kwas octowy	1:4:0,25
30		Octan *n*-butylu – benzen – kwas octowy	10:1,5:1
31		Octan *n*-butylu – benzen – kwas octowy	1:2:0,15
32		Octan *n*-amylu – benzen – kwas octowy	10:1,5:1
33		Octan *n*-amylu – benzen – kwas octowy	1:1:0,1
34	AB + AB + B	*n*-Butanol – octan *n*-butylu – kwas octowy	1:4:1

-tiomoczniki — w postaci żółtych plamek. Pod wpływem par chlorowodoru DABS-amidy barwiły się na kolor ciemnopomarańczowy, a DABTC — na kolor fioletowy. Po przeprowadzeniu rozdziału za pomocą 81 różnych klas układów rozwijających, zadowalające wyniki rozdziału pochodnych DANS- i DABS--amidów oraz DABTC-tiomoczników uzyskano przy zastosowaniu 40 wyselekcjonowanych układów rozwijających. W tab. 5 zestawiono wartości R_F otrzymanych pochodnych dla układów rozwijających nr 1, 9, 17, 27, 28. Za pomocą układów rozpuszczalników nr 1, 22 i 33 dokonano rozdziału chromatograficznego DANS-amidów, DABS-amidów i DABTC-tiomoczników z mie-

Tab. 5. Wartości R_F DANS- i DABS-amidów oraz DABTC uzyskane metodą TLC
R_F DANS- and DABS-amides and DABTC values obtained by TLC method

NR UKŁADU ROZPUSZCZ.		1			9			17			27			28		
NR	AMINY	$R_F \times 100$														
		DANS--AMIDY	DABS--AMIDY	DABTC	DANS--AMIDY	DABS--AMIDY	DABTC	DANS--AMIDY	DABS--AMIDY	DABTC	DANS--AMIDY	DABS--AMIDY	DABTC	DANS--AMIDY	DABS--AMIDY	DABTC
1	β-PEA	62	59	59	83	83	68	58	55	53	83	79	74	67	63	67
2	TA	57	55	55	80	81	65	45	42	39	50	50	43	63	60	61
3	OCT	48	46	42	70	69	55	34	30	26	17	19	20	54	54	52
4	DA	43	44	36	73	79	48	32	25	15	9	18	12	55	55	51
5	NA	55	23	14	81	73	39	42	24	10	18	3	3	61	47	43
6	A	49	37	34	74	71	50	37	31	19	12	38	13	57	50	45
7	HI	34	32	4	51	54	7	38	1	0	37	16	0	48	49	3
8	5 HT	51	51	50	79	79	62	32	30	28	37	36	36	60	59	56



Ryc. 1. Chromatogramy DANS- i DABS-amidów oraz DABTC. Eluent nr 22
Chromatograms of DANS- and DABS-amides and DABTC. Eluent no. 22

szaniny osobno każdej z wymienionych 3 pochodnych. Uzyskane wyniki przedstawiono na ryc. 1 na przykładzie eluentu nr 22.

W dalszym toku doświadczeń określono próg czułości detekcji niektórych otrzymanych pochodnych. Badano czułość detekcji DANS-β-PEA, DANS-TA, DABS-β-PEA, DABS-TA, DABTC-β-PEA i DABTC-TA, stosując układ rozpuszczalników: benzen + pirydyna + kwas octowy 5:1:0,05 [v/v]. Uzyskane wyniki zestawiono w tab. 6.

Tab. 6. Rozcieńczenia stosowane do określania poziomu wykrywalności DANS-, DABS-, DABTC-, -PEA i -TA

Dilutions used for determining the level of detectability of DANS-, DABS-, DABTC, -PEA and -TA

NR	1		2		3		4		5		6	
SUBSTANCJA	STĘŻENIE		STĘŻENIE		STĘŻENIE		STĘŻENIE		STĘŻENIE		STĘŻENIE	
	µg	mol	ng	mol	ng	mol	ng	mol	ng	mol	ng	mol
DANS-β-PEA	14,2	40 nm	56,6	159 pm	28,3	80 pm	18,8	53 pm	14,1	40 pm	11,3	32 pm
DANS-TA	14,8	—"—	59,2	—"—	29,6	—"—	19,7	53 pm	14,8	—"—	11,8	—"—
DABS-β-PEA	16,3	—"—	65,2	159 pm	32,6	—"—	21,7	—"—	16,3	—"—	13,0	—"—
DABS-TA	16,9	—"—	67,6	159 pm	33,8	—"—	22,5	—"—	16,9	—"—	13,5	—"—
DABTC-β-PEA	16,0	—"—	64,0	—"—	32,0	—"—	21,3	—"—	16,0	—"—	12,8	32 pm
DABTC-TA	16,7	—"—	67,0	—"—	33,5	—"—	22,3	—"—	16,7	—"—	13,4	32 pm

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano przykładu zastosowania DABS-Cl i DABITC do uzyskiwania pochodnych amin biogennych i ich chromatograficznego rozdziału. Natomiast wiele pozycji literaturowych podaje, iż wykorzystano do tego celu DANS-Cl (13).

W związku z tym w przedstawionej pracy podjęto próbę zastosowania DABS-Cl i DABITC do uzyskania pochodnych niektórych monoamin biogennych w postaci DABS-amidów i DABTC-tiomoczników. Otrzymane pochodne wraz z DANS-amidami użytych do badań amin poddano porównawczej analizie chromatograficznej metodą TLC. Przebadano użyteczność do rozdziału DANS-, DABS- i DABTC-pochodnych omawianych amin 81 układów rozpuszczalników zaliczanych do różnych klas. Spośród tych

układów rozwijających wyselekcjonowano 40 dających zadowalający rozdział analizowanych pochodnych. Z tej grupy wyodrębniono 6 układów rozpuszczalników dających bardzo selektywny rozdział mieszaniny różnych pochodnych badanych monoamin biogennych. Dotyczy to zarówno DANS- i DABS--amidów, jak i DABTC- tiomoczników. Omówione układy rozpuszczalników nr 1, 5, 22, 33 były własnej kompozycji, a octan etylu i octan etylu–benzen (10:1,5) opisane w piśmiennictwie (4). Wprowadzenie rodników DABS i DABTC, jak również DANS w sposób zasadniczy zmieniało właściwości fizykochemiczne omawianych monoamin przekształconych w sulfonamidowe lub tiomocznikowe pochodne. Taka zmiana fizykochemiczna właściwości badanych związków w porównaniu do wolnych amin była korzystna dla ich chromatograficznego rozdziału. We wszystkich stosowanych układach rozwijających najwyższe wartości R_F wykazywały pochodne DANS-, DABS- oraz DABTC-β-PEA i -TA.

Wykazano przy tym, że DABITC oraz DABS-Cl są dobrymi reagentami przy otrzymaniu pochodnych amin biogennych i w niczym nie ustępują stosowanemu i opisanemu w piśmiennictwie DANS-Cl, o czym świadczy najlepsza selektywność rozdziału poszczególnych monoamin w postaci DABTC-pochodnych. Drugie miejsce zajmują DABS-pochodne, a najmniej selektywny rozdział zaobserwowano w przypadku DANS-pochodnych. W 40 różnych układach rozpuszczalników różnych klas w przypadku DABTC-tiomoczników uzyskano w 37 rozpuszczalnikach prawidłową kolejność układania się wartości R_F 5 analizowanych pochodnych według ich malejącej polarności. Analizowane

Tab. 7. Wartości współczynników R_F 5 amin, ułożone według malejącej polarności ich pochodnych DABTC

Values of R_F coefficients of 5 amines, arranged according to the decreasing polarity of their DABTC derivatives

DABTC	UKŁADY ROZPUSZCZALNIKÓW									
	1	4	5	6	10	12	16	17	22	24
	R_F ×100									
- NA	14	20	18	18	23	7	12	10	15	12
- DA	36	39	23	22	40	18	17	15	22	30
- OCT	42	57	45	47	52	21	32	26	38	36
- TA	55	69	61	61	65	41	46	39	54	58
-β-PEA	59	72	64	66	68	53	60	53	60	70

tiomocznikowe pochodne amin układają się na chromatogramach w następującej kolejności, według wzrastających wartości R_F: NA, DA, OCT, TA, β-PEA. Uzyskane wyniki zestawiono w tab. 7. W przypadku DABS-amidów poszczególnych pochodnych amin na 40 różnych układów rozwijających prawidłową kolejność wzrostu wartości R_F w zależności od malejącej polarności uzyskano tylko w 17 układach rozpuszczalników. DANS-amidy nie wykazywały takiej zależności.

Badając porównawczo czułość wykrywalności wybranych 2 amin — ß-fenyloetyloaminy i tyraminy w postaci DANS- i DABS-amidów oraz DABTC--tiomoczników — stwierdzono, że najwyższą czułość wykazywały tiomocznikowe pochodne DABTC badanych amin i wynosiła ona $32 \cdot 10^{-12}$ mola. W dalszej kolejności uplasowały się DANS-amidy — $53 \cdot 10^{-12}$ mola i najmniejszy próg czułości detekcji posiadały DABS-amidy — $159 \cdot 10^{-12}$ mola. Uzyskane wyniki potwierdzają możliwości i korzystny wpływ zastosowania DABS-Cl, a zwłaszcza DABITC do chromatograficznego rozdziału monoamin biogennych. Stanowi to pewien postęp w analizie tych biologicznie ważnych związków chemicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson A. Ch., Henningson S.: Metabolism of Putrescine in the Pregnant Rat. Acta Physiol. Scand. **113**, 523, 1981.
2. Bugajski J.: Udział histaminy w reakcjach organizmu podczas nadmiernego obciążenia ośrodkowego układu nerwowego. Acta Physiol. Pol. **32**, 165, 1981.
3. Chang J. Y.: High-sensitivity Sequence Analysis of Peptides and Proteins by 4-N,N-dimethylaminoazobenzene-4'-isothiocyanate. Biochem. J. **163**, 517, 1977.
4. Czilingarow A. O., Sobczinska N. M.: Koliczestwiennyj ultramikroanaliz dansil-dieriwatow monoaminow w biołogiczeskom matieriale, Lab. Dieło **6**, 333, 1980.
5. Guggenheim M.: Die biogenen Amine. S. Karger Verlag, New York–Basel 1951.
6. Kądzielowa K.: Aminy biogenne a sen. Post. Hig. Med. Dośw. **25**, 231, 1971.
7. Mosnaim A. D., Silkaitis R.: Rabbit Brain Metabolism of Phenylethylamine and Tyramine: Drug Effects. Life Sci. **27**, 557, 1980.
8. Orgacka H. i wsp.: Wpływ różnych czynników na poziom katecholamin w ustroju. Post. Hig. Med. Dośw. **37**, 383, 1983.
9. Saavedra J. M. i wsp.: Monocatecholic Phenylethylamines. Part I. Phenylethylamine: Biological Mechanisms and Clinical Aspects. Marcel Dekker, 1978.
10. Schayer R. W., Reilly M.: Metabolism of ^{14}C-histamine in Brain. J. Pharmacol. Exp. Ther. **187**, 34, 1973.
11. Weber G.: Polarization of the Fluorescence of Macromolecules. Biochem. J. **51**, 155, 1952.
12. Wolski T. i wsp.: Sposób otrzymywania chlorku kwasu 4-N,N-dwumetyloaminoazobenzeno--4'-sulfonowego (DABS-Cl), UP PRL 1985. P 124551.
13. Yamatodani A. i wsp.: Determination of Histamine and Methylhistamine by Dansylation and Its Application to Biological Specimens. J. Chromatogr. **144**, 141, 1977.

Otrzymano 1987.12.20.

РЕЗЮМЕ

Дериватизация биогенных аминов создаёт лучшие условия для их хроматографического анализа. С этой целью применяются разные реагенты. В данной работе впервые использовано с этой целью DABS-Cl и DABITC, а затем были сопоставлены эти соединения с описаным в литературе и применяемым хлоридом дансилия (DANS-Cl). Проведенный методом TLC сравнительный анализ восьми биогенных моноамидов показал самую лучшую селективность распределения тиомочевиновых производных DABITC-а. Вышеперечисленные производные анализированных аминов проявляли также самую высокую чувствительность выявления равную 32 пм.

SUMMARY

The derivation of the biogenic amines creates better conditions for their chromatographic analysis. Different reagents are used for this purpose. In the present paper DABS-Cl and DABITC were applied for the first time and compared with the ones described in the literature and with dansyl chloride (DANS-Cl). The comparative analysis of 8 biogenic monoamines, performed by means of TLC method gave the best selectivity of the separation of the DABITC thiocarbamide derivatives. Moreover, the above mentioned derivatives of the studied amines showed the highest detection sensitivity being 32 pm.