

they are present at an abnormally high level due to thyroid hyperfunction particularly of large glands.

This work was part of a research programme supported by the British Empire Cancer Campaign. The authors would like to thank Professor F. DICKENS, F.R.S., Professor J. F. ROBERTS and Mr. R. VAUGHAN-HUDSON for their help and interest.

*British Empire Cancer Campaign Radiochemical Laboratory,  
Department of Physics applied to Medicine,  
Middlesex Hospital, London (Great Britain)*

D. BEALE  
J. K. WHITEHEAD

- <sup>1</sup> C. R. HARRINGTON AND S. S. RANDALL, *Biochem. J.*, 23 (1929) 373
- <sup>2</sup> K. FINK AND R. M. FINK, *Science*, 108 (1948) 358.
- <sup>3</sup> A. TAUROG, W. TONG AND I. L. CHAIKOFF, *J. Biol. Chem.*, 184 (1950) 83.
- <sup>4</sup> J. GROSS, C. P. LEBLOND, A. E. FRANKLIN AND J. H. QUASTEL, *Science*, 111 (1950) 605.
- <sup>5</sup> J. ROBBINS, J. E. RALL, D. V. BECKER AND R. W. RAWSON, *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, 12 (1952) 856.
- <sup>6</sup> W. TONG, A. TAUROG AND I. L. CHAIKOFF, *J. Biol. Chem.*, 195 (1952) 407.
- <sup>7</sup> F. BROWN AND H. JACKSON, *Biochem. J.*, 50 (1954) 399.
- <sup>8</sup> J. ROBBINS, J. E. RALL AND R. W. RAWSON, *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, 15 (1955) 1315.
- <sup>9</sup> R. S. BENUA AND B. M. DOBYNS, *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, 15 (1955) 118.
- <sup>10</sup> J. D. ABBATT AND H. E. A. FARRAN, *Advances in Radiobiol.*, (1956) 305.
- <sup>11</sup> W. S. DINGLELINE, R. PITT-RIVERS AND J. B. STANBURY, *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, 15 (1955) 724.
- <sup>12</sup> H. E. A. FARRAN, A. J. LEA, A. W. G. GOOLDEN AND J. D. ABBATT, *Lancet*, 276 (1959) 793.
- <sup>13</sup> J. R. TATA, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 427.
- <sup>14</sup> S. C. WERNER AND R. J. BLOCK, *Nature*, 183 (1959) 406.
- <sup>15</sup> J. K. WHITEHEAD AND D. BEALE, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 710.
- <sup>16</sup> J. K. WHITEHEAD, *Biochem. J.*, 68 (1958) 662.

Received August 27th, 1959

*Clin. Chim. Acta*, 5 (1960) 150-152

### The ferric chloride test for phenylpyruvic acid in urine

The qualitative ferric chloride test for phenylpyruvic acid in urine (FÖLLING'S or GERHARD'S test) is of diagnostic value for patients afflicted with phenylketonuria (oligophrenia phenylpyruvica)<sup>1-3</sup>. When the urine is acidified and ferric chloride is added, a green colour develops which fades after some minutes.

In the literature cases of a negative ferric chloride reaction in the urine of phenylketonuric patients have been described<sup>4</sup>. Usually, this happens because the phosphates which are always present in human urine mask the ferric chloride reaction. As a demasking agent we use a mixture of magnesium chloride (11 g), ammonium chloride (14 g) and ammonia solution (22.5 ml of 25% NH<sub>3</sub>), diluted to one litre.

#### Procedure

To 4 ml of urine is added 1 ml of the above mixture. In the short time during which the urine is alkaline, there is no danger of destruction of the phenylpyruvic acid. After mixing and standing for 5 min, the precipitate is filtered off. The alkaline urine filtrate is acidified with 2 drops of a 10% hydrochloric acid solution and 1-3 drops of a 10% ferric chloride solution are added. The phenylpyruvic acid in the urine, which was previously masked, then gives the green colour of the positive reaction.

This reaction can also be utilized for quantitative determinations of phenylpyruvic acid in urine, but has then no advantage over the simple method previously described<sup>5, 6</sup>. As a qualitative test however, the reaction has proved very helpful.

Department of Pediatrics, University of Utrecht (The Netherlands) O. MEULEMANS

<sup>1</sup> A. FÖLLING, *Z. physiol. Chem., Hoppe-Seyler's*, 227 (1934) 169.

<sup>2</sup> A. FÖLLING AND K. CLOSS, *Z. physiol. Chem., Hoppe-Seyler's*, 254 (1938) 115.

<sup>3</sup> J. DELAY, P. PICHOT, M. POLONOVSKI, P. DESGREZ AND F. DELHARRE, *Semaine hôp.*, 23 (1947) 1749.

<sup>4</sup> S. W. WRIGHT AND G. TARJAN, *A.M.A.J. Diseases Children*, 93 (1957) 405.

<sup>5</sup> T. P. THE, P. FLEURY AND C. L. J. VINK, *Clin. Chim. Acta*, 2 (1957) 424.

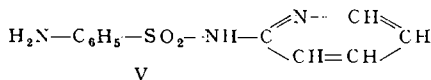
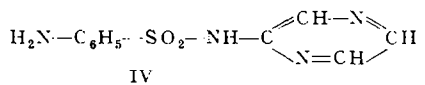
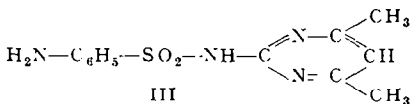
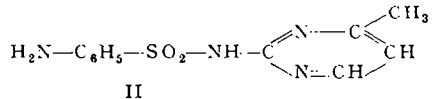
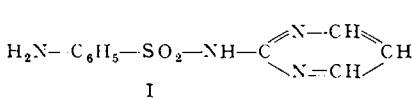
<sup>6</sup> O. MEULEMANS, *Clin. Chim. Acta*, 5 (1960) 48.

Received September 8th, 1959

*Clin. Chim. Acta*, 5 (1960) 152-153

## Ein spezifischer Nachweis von Sulfadiazin in der Tüpfelanalyse

Im Verlaufe von Untersuchungen über die analytische Verwertung bestimmter Schmelz- und Sinterreaktionen der Barbitursäure und Thiobarbitursäure, wurde ein sehr bemerkenswertes Verhalten des Sulfadiazins (I) festgestellt. Diese Verbindung bildet vermischt mit Barbitursäure oder Thiobarbitursäure und auf *ca.* 160–180° erhitzt orangegelbe bzw. rote Produkte. Im Gegensatz hierzu erweisen sich die dem Sulfadiazin konstitutiv sehr nahe stehenden Verbindungen Sulfamerazin (II), Sulfamethazin (III), Sulfapyrazin (IV) und Sulfapyridin (V) als reaktionslos.



Es hat sich gezeigt, dass die Farbreaktionen auch auf nassem Wege in wässriger Lösung oder Suspension eintreten und damit einen spezifischen Nachweis von Sulfadiazin ermöglichen. Die grösste Empfindlichkeit wird mit Thiobarbitursäure als Reagens erreicht.

Für den Chemismus der Farbreaktionen gibt deren Beschränkung auf Sulfadiazin, sowie der Tatsache, dass die  $\text{CH}_2$ -Gruppe in der Barbitursäure bzw. Thiobarbitursäure unumgänglich ist, sichere Hinweise. Beides steht im Einklang mit der Bildung eines Polymethinfarbstoffes. Die Umsetzung mit Thiobarbitursäure (analoges gilt für Barbitursäure) entspricht der Formulierung: