

Eine Methode zur Trennung von Testosteron und Epitestosteron mittels Kieselgel-Dünnschichtchromatographie*

Aus den bisher vorliegenden Mitteilungen über die Trennung von Testosteron (T) und Epitestosteron (E) mittels Dünnschichtchromatographie geht nicht hervor, dass diese Substanzen sich auch auf Kieselgelplatten trennen lassen.

Es ist uns gelungen, eine Trennung von T und E auf Kieselgelplatten zu erzielen. Wir benutzten dazu Kieselgel (HF₂₅₄, E. Merck AG, Darmstadt), das in einer Schichtdicke von 0.25 mm mit einem Desaga-Streichgerät auf eine 20 × 20 × 0.4 cm grosse Glasplatte aufgetragen wurde. Die Platte wurde unterteilt in drei Spalten, A, B und C. In Spalte A wurden 5 µg E, in Spalte B 5 µg T, in Spalte C je 5 µg E und T aufgetragen. Die Entwicklung der Platte erfolgte im System Dichlormethan-Äthylacetat 9:1, v/v. Nach 45 Min. hatte die Lösungsmittelfront die obere Platten-grenze erreicht. Durch fünfmalige Rechromatographie im gleichen System wurde eine vollständige Trennung der Substanzen erzielt (s. Fig. 1).

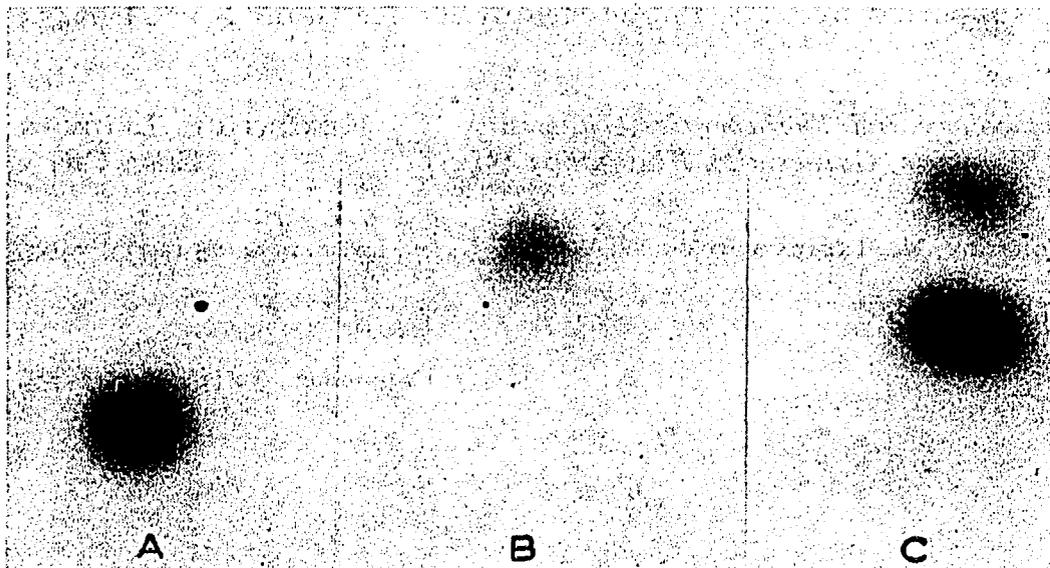


Fig. 1. Lokalisation von Epitestosteron und Testosteron nach 8 Std. Laufzeit (s. Text). A = Epitestosteron, B = Testosteron, C = Epitestosteron und Testosteron.

Eine Vereinfachung ergibt sich durch Anheften von saugfähigem Filterpapier am oberen Plattenrand, das die Fließmittelfront aufnimmt. Das Filterpapier wurde mit Klammern zwischen die Kieselgelplatte und eine 5 × 20 cm grosse Glasplatte eingeklemmt. Im oben angegebenen System wurde dann die Platte 8 Std. bei +4° entwickelt. Die Lokalisation des T und E erfolgte unter einer U.V.-Lampe.

Zur quantitativen Bestimmung des Testosterons im menschlichen Harn mit Hilfe der Fluorometrie oder Gaschromatographie kann nach Extraktion mit bekannten Verfahren¹⁻⁵ die Reinigung des Extraktes und Abtrennung des E von T mit der von uns oben beschriebenen Methode erfolgen.

Eine weitere Möglichkeit zur Isolierung von T und Abtrennung von E ergibt sich aus der Anwendung der zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie in

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

den Systemen A (Dichlormethan-Äthylacetat, 9:1 v/v) und B (Chloroform-Cyclohexan-Eisessig, 5:4:1, v/v/v). Damit werden die Verluste wesentlich geringer als bei den bisher angegebenen Methoden mit mehrfacher Chromatographie.

2. *Medizinische Klinik und Poliklinik*
und Physiologisch-Chemisches Institut**
der Universität Düsseldorf (Deutschland)*

V. REMMERS***
H. SCHMITT
H. G. SOLBACH
W. STAIB
H. ZIMMERMANN

- 1 W. FUTTERWEIT, M. L. McNIVEN, R. GUERRA-GARCIA, N. GIBREE, M. DROSDOWSKI, G. L. SIEGEL, L. J. SOFFER, I. M. ROSENTHAL UND R. I. DORFMAN, *Steroids*, 4 (1964) 137.
- 2 W. HÜBNER UND W. STAIB, *Klin. Wochschr.*, 13 (1967) 674.
- 3 H. J. VAN DER MOLEN, D. GROEN UND A. PETERSE, in A. VERMEULEN UND D. EXLEY (Herausgeber), *Androgens in Normal and Pathological Conditions, Intern. Congr. Ser., Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1966, S. 1.*
- 4 A. VERMEULEN UND J. C. M. VERPLANCKE, *Steroids*, 2 (1963) 453.
- 5 N. D. VOIGT, U. VOLKWEIN UND J. TAMM, *Klin. Wochschr.*, 42 (1964) 641.

Eingegangen den 10. Oktober 1967

* Direktor: Prof. Dr. K. OBERDISSE.

** Direktor: Prof. Dr. S. HOLLMANN.

*** Die vorliegende Arbeit enthält Auszüge aus der Dissertation von V. REMMERS, Düsseldorf, 1968.

J. Chromatog., 32 (1968) 760-761

A spray reagent for the identification of epoxides on thin layer plates

Picric acid (2,4,6-trinitrophenol) has been found to react with a number of epoxides at room temperature¹. The reaction is specific and has been particularly useful in detecting epoxides in heated oils where the presence of other oxidation products can make detection and isolation difficult². To our knowledge no satisfactory spray reagent for fatty (internal) epoxides exists. The sodium iodide reagent used by BUCHANAN AND SCHWARTZ³ works well on terminal epoxides only. The method which relies on the formation of halo-hydrins⁴ is not completely satisfactory because it lacks specificity and also because it does not give a colored derivative. The method described below eliminates some of these difficulties.

Experimental

Materials. The preparation of the epoxidized methyl esters used in this study has been described elsewhere¹. An oil rich in the triglyceride of vernolic acid (*cis*-12,13-epoxy-*cis*-9,10-octadecenoic acid) was obtained by crystallizing *Vernonia anthelmintica* seed oil from four volumes of 20-40° petroleum ether at -10° for 18 h. When freed from the solvent, the crystallized material contained 4.34% oxirane⁵ for a computed vernolic acid content of 84%, most of which is in the triglyceride form. The oil contained 2.5% unsaponifiable matter⁶ and about 12% of the natural fatty acids,

J. Chromatog., 32 (1968) 761-763