

CHROM. 3376

Eine modifizierte Nachweisreaktion für Östrogene auf Papier- und Dünnschichtchromatogrammen

Mehrere spezifischere Farbreaktionen auf phenolische Steroide sind in der Literatur beschrieben¹⁻⁵. Die hier vorgeschlagene *in situ* Nachweisreaktion ist leicht durchzuführen und spezifisch für Steroide mit einer freien phenolischen Gruppe. Sie basiert auf einer Abwandlung der Phosphormolybdänsäure-Farbreaktion. Phosphormolybdänsäure wird allgemein als ein unspezifisches Farbreagens für Steroide mit reduzierenden Eigenschaften verwendet⁶⁻⁹. Die von uns vorgeschlagene Modifikation beruht auf einer zweiten Behandlung des Chromatogrammes mit "Alkali".

Die Farbreaktion wurde durchgeführt, indem das Papierchromatogramm (nach einwandfreier Trocknung) zunächst durch eine alkoholische 8 %-ige Phosphormolybdänsäurelösung gezogen bzw. die Dünnschichtplatten damit besprüht wurden. In gleicher Weise erfolgte nun die Behandlung mit einem basischen Reagens (wässrige 2.5 %-ige KOH- oder eine 3 %-ige NaOH-Lösung, bei Verwendung von Ammoniak genügt es, die Chromatogramme in die Dämpfe einer 25 %-igen NH₃-Lösung zu halten).

Während der Behandlung mit dem basischen Reagens erscheinen die Steroide mit einer freien phenolischen Gruppe spontan als dunkelblaue Flecken.

Folgende Steroide wurden in einer Menge von ca. 10 µg getestet und ergaben eine positive Reaktion: Östron, Östradiol-17β, Östradiol-17α, Östriol, Equilin, Δ¹⁶-Östratetraen, 2-Hydroxyöstron und 2-Methoxyöstron. Die beiden letztgenannten sehr reaktiven Verbindungen ergaben allein mit Phosphormolybdänsäure eine positive Farbreaktion. Die Farbtintensität erhöhte sich jedoch wesentlich nach der Behandlung mit dem basischen Reagens. Bei allen anderen in gleicher Konzentration getesteten Steroiden, die keine freie phenolische Gruppe aufweisen (Östronsulfat, Östronmethylester, Östronacetat, Testosteron, Androstendion, Progesteron, 17α-Hydroxyprogesteron, 17α-Hydroxypregnenolon, Corticosteron und Cortisol), war die Reaktion negativ.

Die Empfindlichkeit der Methode wurde an Hand der Verbindungen Östron, Östradiol-17β und Östradiol-17α auf Dünnschichtplatten (Kieselgel nach Stahl, Fa. Merck, 0.1 mm Schichttiefe) erprobt. Die Platten wurden in einem Äthanol-Benzol (1:9)-System entwickelt. Bei allen drei Steroiden lag die untere Nachweisgrenze bei 1 µg/cm².

Institut für Physiologie der Süddeutschen Versuchs- und
Forschungsanstalt für Milchwirtschaft,
805 Freising-Weihenstephan (Deutschland)

B. HOFFMANN

- 1 L. R. AXELROD, *J. Biol. Chem.*, 201 (1953) 59.
- 2 F. L. MITCHELL UND R. E. DAVIES, *Biochem. J.*, 56 (1954) 690.
- 3 C. HEUSGHEM, *Nature*, 171 (1953) 42.
- 4 E. DEMOLE, *J. Chromatog.*, 1 (1958) 24.
- 5 H. H. VARON, H. A. DARNOLD, M. MURPHY UND J. FORSYTHE, *Steroids*, 9 (1967) 507.
- 6 R. P. MARTIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 25 (1957) 408.
- 7 F. MARKWARDT, *Naturwiss.*, 41 (1954) 139.
- 8 KRITCHEVSKY UND M. R. KIRK, *Arch. Biochem. Biophys.*, 35 (1952) 346.
- 9 M. L. LEWBART UND J. J. SCHNEIDER, *Nature*, 176 (1955) 1175.

Eingegangen den 29. Dezember 1967