

CHROM. 3720

Comportement en chromatographie en phase gazeuse de quelques β -D glucopyranuronosides (tri-O-acétylés esters méthyliques) d'hydroxy-stéroïdes

Les stéroïdes éliminés dans les urines humaines le sont sous forme hydro-soluble, conjugués aux acides sulfurique et D-glucuronique sous forme d'hémi-ester sulfurique et de β -D glucopyranuronoside.

Jusqu'alors leur analyse et leur dosage ont été faits après coupure de la copule sulfurique ou glucuronique par procédé chimique ou enzymatique.

Les premières tentatives de dosage de ces entités conjuguées l'ont été par JAAKOMAKI *et al.*¹, VANDENHEUVEL² and HORNING *et al.*³.

Cependant, les dérivés utilisés, esters méthyliques-triméthylsilyl éthers, ont été préparés ex-temporaneamente et ne sont pas décrits.

Nous nous sommes adressés aux β -D glucopyranuronosides (2,3,4-tri-O-acétylés, esters méthyliques) qui peuvent être préparés aisément par acétylation et méthylation des β -D glucuronosides libres⁴, procédé que nous avons amélioré. Ces composés sont d'autre part des intermédiaires dans la synthèse organique.

La présente note rapporte leur comportement en chromatographie en phase gazeuse sur trois types de colonnes W98, OV.1, OV.17 à une température de 310°.

L'appareil utilisé est un Gas-Chromatograph F et M Scientific Hewlett-Packard, modèle 402.

Le détecteur est à ionisation de flamme, il a été maintenu à 320° durant les manipulations (chambre d'injection également à 320°). L'échelle de sensibilité adoptée 2×10 correspond à un courant de 8.10^{-11} A. La pression du gaz vecteur azote a été ajustée à 4 bars, son débit fixé à 46 ml/min.

Les trois colonnes de verre (en forme de U, préalablement traitées par le diméthylchlorosilane) furent ainsi constituées:

(a) Phase stationnaire à 3.8 % de W98 (silicone) sur un support de Diatoport S 80-100 mesh. Longueur 1.2 m; diamètre intérieur 4 mm; environ 3000 plateaux théoriques.

(b) Phase stationnaire à 4 % d'OV1 (polymère de méthylsiloxane) sur Aeropak 100-120 mesh. Longueur 1.8 m; diamètre intérieur 4 mm; environ 4000 plateaux théoriques.

(c) Phase stationnaire à 4 % d'OV.17 (polymère de méthylphénylsiloxane) sur Gas Chrom Q 100-120 mesh. Longueur 1.2 m; diamètre intérieur 4 mm; environ 2000 plateaux théoriques.

Les composés suivants ont été étudiés et sont affectés d'un chiffre, volontairement choisi en fonction de leur ordre d'élu-tion:

(1) Oxo-17 androstane-5 α H yl-3 α (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide d'androstérone Ac₃Me"; F = 176°-178°.

(2) Oxo-17 androstane-5 β H yl-3 α (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide de 5 β androstérone Ac₃Me"; F = 172°-175°.

(3) Oxo-17 androstane-5 β H yl-3 β (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide de 5 β épian-drostérone Ac₃Me"; F = 158°-160°.

(4) Oxo-17 androstane-5 α H yl-3 β (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide d'épiandrostérone Ac₃Me"; F = 175°-178°.

(5) Oxo-17 androstène-5 yl-3 β (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide de déhydroépiandrostérone Ac₃Me"; F = 194-195°.

(6) Oxo-3 androstène-4 yl-17 β (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide de testostérone Ac₃Me"; F = 186°-188°.

(7) Acetoxy-3 oestra 1-3-5(10) triène yl-17 β (β -D tri-O-acétyl 2,3,4-glucopyranosiduronate de méthyle) "glucuronide (17) d'oestradiol Ac₄Me"; F = 194°-196°.

Les six premiers composés de la série de l'androstane ont été décrits par l'un de nous⁵; le septième, unique représentant oestrogène le sera prochainement⁶.

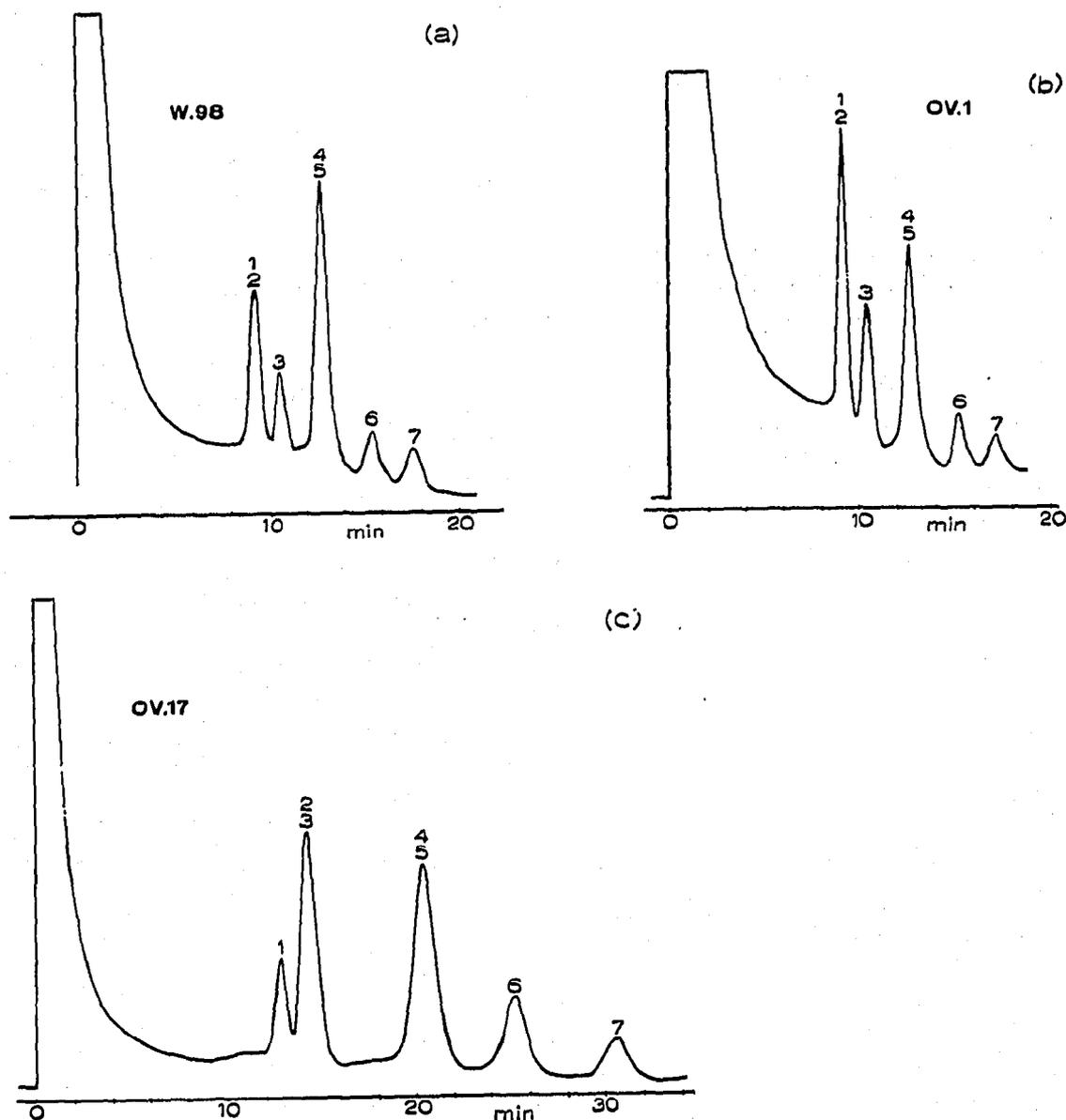


Fig. 1. Chromatogrammes d'un mélange de sept stéroïdes conjugués sur colonnes de W.98 (a) OV.1 (b) et OV.17 (c).

TABLEAU I

TEMPS DE RÉTENTION DES β -D GLUCURONOSIDES (TRI-O-ACÉTYLÉS, ESTERS MÉTHYLIQUES)
D'HYDROXYSTÉROÏDES

Composée	Colonne					
	W.98		OV.1		OV.17	
	t	s	t	s	t	s
1	10	0.25	9.20	0.12	12.40	0.05
2	10	0.25	9.20	0.25	14.10	0.06
3	11	0.50	10.40	0.50	15.30	0.25
4	13.10	0.50	12.50	0.50	19.30	0.13
5	13.10	0.25	12.50	0.25	19.30	0.13
6	16	0.50	15.30	0.50	24.30	0.25
7	17.30	0.50	17.30	0.50	30.20	0.25

t = Temps de rétention en minutes secondes; s = quantité minimum dosée en μ g.

Le Tableau I résume les résultats obtenus: mis à part les deux dérivés de l'épiandrosterone et de la déhydroépiandrosterone, on voit que ces composés présentent des temps de rétention différents.

Nous avons ensuite injecté le mélange de ces sept composés. Les chromatogrammes obtenus sont reproduits dans les clichés ci-contre où chaque pic a été identifié par les temps de rétention précédemment établis.

Aucune décomposition de ces produits n'a été observée; pour trois d'entre eux une opération conduite avec piégeage au sortir de la colonne a permis de les retrouver inaltérés, le contrôle étant effectué par chromatoplaque.

Cette étude a été entreprise dans un but de trouver une méthode d'analyse des stéroïdes conjugués qui éviterait l'hydrolyse préalable, hydrolyse qui peut n'être pas toujours reproductible.

Nous nous proposons d'évaluer l'intérêt de cette méthode dans l'analyse des stéroïdes urinaires.

Laboratoire de Chimie Biologique*,
Faculté de Médecine,
45 rue des Saints-Pères, Paris (France)

BERNARD DESFOSSÉS
ROGER CONDOM
ROMÉO EMILIOZZI

- 1 P. I. JAAKOMAKI, K. A. YARGER ET E. C. HORNING, *Biochim. Biophys. Acta*, 137 (1967) 216.
- 2 W. J. A. VANDENHEUVEL, *J. Chromatog.*, 28 (1967) 406.
- 3 E. C. HORNING, M. G. HORNING, N. IKEKAWA, P. I. JAAKOMAKI ET C. J. W. BROOKS, *J. Gas Chromatog.*, 5 (1967) 283.
- 4 F. FOGGIT ET A. E. KELLIE, *Biochem. J.*, 91 (1964) 209.
- 5 R. EMILIOZZI, *Bull. Soc. Chim. France*, (1968) 738.
- 6 R. CONDOM, non publié.

Reçu le 26 juillet, 1968.

* Directeur Prof. M. F. JAYLE.