

## Darstellung und spektroskopische Untersuchung von Fluoreszenzchromogenen der $\Delta^4$ -3-Ketosteroide an Lithiumhydroxyd-Preßlingen

Von R. ABRAHAM und HJ. STAUDINGER

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Gießen  
(Z. Naturforschg. **18** b, 421 [1963]; eingegangen am 23. Februar 1963)

$\Delta^4$ -3-Ketosteroide ergeben beim Besprühen mit Alkali auf Papierchromatogrammen<sup>1</sup> oder mit Kaliumtert.butoxid<sup>2</sup> fluoreszierende Verbindungen. Es ist uns gelungen, diese Alkali-Fluoreszenzchromogene auf der Oberfläche von Lithiumhydroxyd-Preßlingen zu erzeugen und ihre Anregungs- und Fluoreszenzspektren im Reflexionsverfahren zu messen.

**Methodik:** Zur Herstellung der Preßlinge verwendeten wir eine hydraulische Presse (Fa. Perkin-Elmer), wie sie für die KBr-Preßtechnik in der IR-Spektroskopie benutzt wird und stellten bei einer Einwaage von 400 mg LiOH Preßlinge von ca. 2 mm Stärke und 13 mm Durchmesser her. Auf die Oberfläche der Preßlinge wurden 20–40  $\mu$ g des Steroids in äthanolischer Lösung aufgetropft, das Lösungsmittel abgedampft und der Preßling zur Entwicklung des Chromogens 10 Min. auf 100 °C erhitzt. Zur Messung der Fluoreszenz- und Anregungsspektren benutzten wir ein Doppelmonochromator-Fluorometer der Fa. Carl

meidlichen kohärent gestreuten bzw. reflektierten Lichtanteile.

Die für die einzelnen Steroide gefundenen spektralen Lagen der Maxima von Anregung und Fluoreszenz sind in der folgenden Tab. 1 zusammengestellt.

Die gemessenen Daten lassen sich noch nach 48-stdg. Aufbewahrung der Präparate in einem dunklen Exsikkator gut reproduzieren.

Folgende Substanzen ergaben keine Fluoreszenzchromogene an LiOH: Östron, Östradiol, Östriol, Androstan-3.17-dion, Androstan-3 $\alpha$ .17 $\beta$ -diol, Pregnan-3 $\alpha$ .20 $\alpha$ -diol,  $\Delta^5$ -Pregnen-3 $\beta$ -ol-20-on, Pregnan-3 $\alpha$ .17 $\alpha$ .21-triol-11.20-dion (Tetrahydrocortison), Pregnan-3 $\alpha$ .17 $\alpha$ .20 $\alpha$ .21-tetrol-11-on und das entsprechende 20 $\beta$ -Isomere ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Cortolon) sowie Pregnan-3 $\alpha$ .11 $\beta$ .17 $\alpha$ .20 $\alpha$ .21-pentol und das entsprechende 20 $\beta$ -Isomere ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Cortolol).

Diese negativen Befunde bestätigen die Annahme, daß die Reaktion mit LiOH spezifisch für  $\Delta^4$ -3-Ketosteroide ist.

Das Verfahren eignet sich besonders im Verein mit den spektroskopischen Daten der Fluoreszenzchromogene dieser Steroide in konz. Schwefelsäure<sup>3</sup> zur Identifizierung von  $\Delta^4$ -3-Ketosteroiden und bietet ferner die Grundlage zur Ausarbeitung quantitativer Bestimmungsmethoden für diese Steroide, da sich die Reaktion als sehr empfindlich erwiesen hat. Die Methode wird von uns mit dieser Zielsetzung weiter entwickelt.

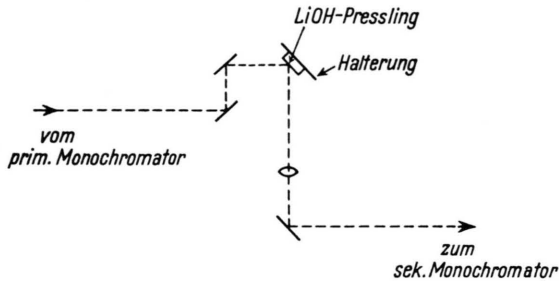


Abb. 1. Anordnung zur Messung der Anregungs- und Fluoreszenzspektren von Steroiden an der Oberfläche von LiOH-Preßlingen.

Zeiss, Oberkochen, mit einer Xenonlampe als polychromatischer Lichtquelle. Der Preßling wird unter 45° in den Strahlengang des Gerätes an Stelle der Fluoreszenzküvette eingesetzt (s. Abb.).

Die Verwendung von Monochromatoren für Anregungs- und Fluoreszenzlicht ermöglicht eine weitgehende Ausschaltung der bei diesem Verfahren unver-

Steroid	Anregung [m $\mu$ ]	Fluoreszenz [m $\mu$ ]
$\Delta^4$ -Androsten-3.17-dion	421	525
$\Delta^4$ -Androsten-17 $\beta$ -ol-3-on (Testosteron)	420	525
$\Delta^4$ -Pregnen-3.20-dion (Progesteron)	415	518
$\Delta^4$ -Pregnen-21-ol-3.20-dion (Desoxycorticosteron)	399	515
$\Delta^4$ -Pregnen-11 $\beta$ .17 $\alpha$ .21-triol-3.20-dion (Cortisol)	396	510
$\Delta^4$ -Pregnen-17 $\alpha$ .21-diol-3.20-dion (Subst. S)	395	512
$\Delta^4$ -Pregnen-17 $\alpha$ .21-diol-3.11.20-trion (Cortison)	398	515
$\Delta^4$ -Pregnen-11 $\beta$ .21-diol-18-al-3.20-dion (Aldost.)	426	517
$\Delta^4$ -Pregnen-11 $\beta$ .21-diol-3.20-dion (Corticosteron)	403	515

Tab. 1. Spektroskopische Daten der Fluoreszenzchromogene einiger  $\Delta^4$ -3-Ketosteroide an der Oberfläche von LiOH-Preßlingen; Mittelwerte aus 3 Messungen, Standardabweichung.

<sup>1</sup> I. E. BUSH, Biochem. J. **50**, 370 [1952].

<sup>2</sup> D. ABELSON u. P. K. BONDY, Arch. Biochem. **57**, 208 [1955].

<sup>3</sup> R. ABRAHAM u. HJ. STAUDINGER, in Vorbereitung.