BECKMAN-Spektrophotometer aufgenommen, dabei zeigt Androsteron ein Maximum bei 430 m μ und Testosteron bei 460 m μ . Die chromatographische Trennung der Hydrazone erfolgt aus Benzollösung auf einer 100 mm-Säule von Aluminiumoxyd nach BROCKMANN. Die Säule wird mit 10 ml Benzol, 50 ml 1%igem Aceton in Petroläther und schließlich mit Chloroform gewaschen, bis die Filtrate farblos sind. Dadurch werden alle Hydrazone mit Ausnahme von Oestron eluiert. Nachdem die Lösungsmittel verdampft sind, wird in Benzol gelöst und auf eine 300 mm-Säule von Florisil adsorbiert. Diese wird mit 5 ml Benzol gewaschen und dann mit ungefähr 150 ml 20%igem Aceton in Petroläther eluiert. Das Androgen wird eluiert und aus dem in Chloroform aufgenommenen Niederschlag kann es spektrophotometrisch wie oben beschrieben bestimmt werden. Auf Grund der verschiedenen Absorptionsverhältnisse bei 430 bzw. 440 m μ läßt sich die Endkonzentration nach folgender Gleichung berechnen:

$$C_1 = \frac{K_2^A D^B - K_2^B D^A}{K_2^A K_1^B - K_2^B K_1^A} \quad C_2 = \frac{D^A - K_1^A C_1}{K_2^A}$$

Hierbei ist C_1 Konzentration des Androsterons, C_2 Konzentration des Testosterons, K_1^A Absorption des Androsteron-Hydrazons bei 430 m μ , K_2^A Absorption des Testosteron-Hydrazons bei 430 m μ , K_1^B Absorption von Androsteron-Hydrazon bei 460 m μ , K_2^B Absorption des Testosteron-Hydrazons bei 460 m μ . D^A Absorptionsmessung der Probe bei 430 m μ , D^B Absorptionsmessung der Probe bei 460 m μ . Bei einem Versuchsansatz mit je 15,5 γ der Hydrazone wurden bei 5facher Wiederholung im Mittel 105% Androsteron und 100% Testosteron wiedergefunden. Die Werte schwankten zwischen 95 und 110 %. Blut kann nach SOMOGYI enteiweißt werden, der eiweißfreie Extrakt wird 2 Std lang mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert, nach dem Abdampfen in Alkohol gelöst, worauf man die Hydrazone in der beschriebenen Weise darstellt.

K. HINSBERG.

Eine fluorometrische Methode zur Bestimmung der Pteroylglutaminsäure empfehlen V. ALLFREY L. J. TEPLY, C. GEFFEN und C. G. KING¹. Die Pteroylglutaminsäure läßt sich durch Permanganat in 2-Amino-4-oxypteridin-6-carbonsäure verwandeln. Das Produkt zeigt eine starke Fluoreszenz bei 470 m μ , wenn mit Licht von 365 m μ bestrahlt wird. Die Fluoreszenzintensität ist direkt proportional der Pteroylglutaminsäure und diese kann daher bestimmt werden. Es werden hierfür 2 Methoden mitgeteilt, die sich durch ihren Anwendungsbereich unterscheiden. Die Dauer der Oxydation und der pH-Wert, bei welchem die Messung erfolgt, sind von ausschlaggebender Bedeutung. Salze vermindern selbst in sehr kleinen Konzentrationen in der Regel schon die Fluoreszenz. Werden die gegebenen Vorschriften genau eingehalten, kann mit einer Ausbeute von 94–104% gerechnet werden. Von den geprüften organischen Substanzen zeigen einige, wie z. B. Riboflavin Thiamin und Nicotinsäure nach der Oxydation keine Fluoreszenz, Tyrosin und Tryptophan nur bei sehr hoher Konzentration. Sind störende Stoffe vorhanden, so kann eine Abtrennung durch Chromatographie erreicht werden. Es gelingt noch, 0,01–10 γ pro ml zu bestimmen und der Vergleich mit biologisch erhaltenen Werten ist befriedigend.

K. HINSBERG.

¹ J. of biol. Chem. 178, 465 (1949).