



Fig. 3

R. FISCHER<sup>7</sup> et J. MONNIER

Centre de Transfusion Sanguine, Hôpital Cantonal, Genève (Suisse), le 29 novembre 1960.

### Beitrag zur Papierchromatographie der Phytoöstrogene

Im Anschluss an die erfolgreichen chromatographischen Arbeiten von BOSE und CHANDRAN<sup>1</sup>, BIGGERS und CURNOW<sup>2</sup>, LYMAN et al.<sup>3</sup> wird in der vorliegenden Mitteilung die papierchromatographische Trennung von Phytoöstrogenen aus Pflanzenextrakten beschrieben.

Das Pflanzenmaterial wurde jeweils mit 96% Alkohol extrahiert, der Alkohol unter vermindertem Druck abdestilliert und das Residuum in 1–2 ml Azeton gelöst. Von dieser Lösung wurden Proben in Form eines 2 mm breiten und 4 cm langen Streifens auf Papier Whatman Nr. 2 und 4 aufgetragen. Als Entwickler wurde eine Mischung von 2 Teilen Chloroform, 1 Teil konzentrierter Essigsäure und 1 Teil Wasser benutzt, und zwar in zwei Modifikationen: 1. untere Schicht dieser Mischung, 2. obere Schicht.

Die Chromatogramme wurden luftgetrocknet und die Stoffe mit UV-Licht und 0,1% Ferrichlorid-Lösung nachgewiesen. Die östrogene Aktivität der nachgewiesenen

Stoffe konnte nach vorheriger Extraktion mit Methanol an infantilen Mäuseweibchen von 6–8 g bestimmt werden (Methodik der Bestimmung wie in der früheren Arbeit: CHURÝ<sup>4</sup>).

Die untere Schicht der Entwicklerrichtung ist für die Trennung der Stoffe nicht geeignet, da das Chlorophyll mitgerissen und die Stoffe maskiert werden. Bei der Anwendung der oberen Schicht bleibt das Chlorophyll am Start zurück, was eine gute Trennung der anwesenden Stoffe ermöglicht. Im UV-Licht bei Anwendung von Kobaltglasfilter können mindestens 4, höchstens 8 Streifen sichtbar werden, deren Rf-Werte in der Tabelle I angeführt sind.

Die Ergebnisse der geprüften biologischen Aktivität der in den einzelnen Streifen anwesenden Stoffe sind der Tabelle II zu entnehmen:

Es ergibt sich, dass man chromatographisch auch solche Spuren von sexualaktiven Stoffen im Pflanzenmaterial nachweisen kann, die sonst in gereinigten Auszügen mittels biologischer Tests nicht erfassbar sind.

Den Detektionsergebnissen mit 0,1% Ferrichlorid-Lösung nach, sind die Stoffe in den Streifen mit Rf 0,95 bis 0,97 wahrscheinlich von Flavonoiden-Charakter. Ob der blau fluoreszierende Stoff (Rf 0,49) mit dem Cumestrol identisch ist, müssen spektrophotometrische Messungen beantworten. Beim hellblau fluoreszierenden Stoff (Rf 0,85) nehmen wir an, dass es sich um eine wahrscheinlich noch unbekannte sexualaktive Substanz handelt, zu deren näherer Charakterisierung Versuche im Gange sind.

*Résumé.* Description d'une méthode chromatographique sur papier pour la séparation des phytoestrogènes dans les extraits non purifiés de plantes. En utilisant la couche supérieure d'un mélange de deux parts de chloroforme, d'une part d'acide acétique et d'une part d'eau distillée, on a extrait 3 substances, qui, soumises au test biologique sur des souris infantiles, se montrèrent estrogènes.

J. CHURÝ

Biologisches Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät, Brno (CSR), 30. Juni 1960.

Tabelle I

Streifen	Fluoreszenz	Rf-Wert	Bemerkung
I	rot	—	—
II	hellblau	0,37	—
III	blau	0,49	aktiv
IV	dunkel	0,65	—
V	grün	0,76	—
VI	hellblau	0,85	aktiv
VII	grünlichgelb	0,94	aktiv
VIII	gelb-grün	0,97	aktiv

Tabelle II

Fluoreszenz	mg Uterusgewicht	% Zuwachs gegen Kontrolle
rot	3,7 ± 0,35	—
blau	10,7 ± 0,80	+ 163%
hellblau	13,00 ± 3,00	+ 242%
grünlich-gelb	6,50 ± 0,30	+ 71%
Kontrolle	3,80 ± 0,40	—

### Further Studies on the Influence of Chloride on the Renal Tubular Reabsorption of Bicarbonate in the Dog

The influence of NaCl-induced rises in plasma chloride concentration ( $P_{Cl}$ ) on tubular bicarbonate reabsorption was studied during  $NaHCO_3$  loading 1. in normal dogs, 2. in respiratory acidotic dogs and 3. in dogs treated with acetazolamide<sup>1</sup>. The data of these experiments were compared with the results previously obtained in this laboratory in normochloremic<sup>2</sup> and in hypochloremic<sup>3–5</sup> animals.

<sup>1</sup> Diamox was generously supplied by the Lederle Laboratories.<sup>2</sup> CH. TOUSSAINT and P. VEREERSTRAETEN, *Exper.* 16, 309 (1960).<sup>3</sup> CH. TOUSSAINT, M. TERLERMAN, and P. VEREERSTRAETEN, *Exper.* 14, 417 (1958).<sup>4</sup> CH. TOUSSAINT, M. TERLERMAN, and P. VEREERSTRAETEN, *Exper.* 15, 232 (1959).<sup>5</sup> CH. TOUSSAINT, M. TERLERMAN, and P. VEREERSTRAETEN, *Exper.* 15, 434 (1959).