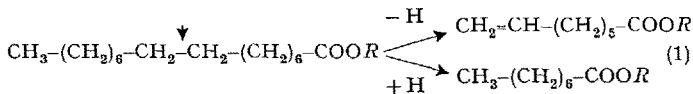


## Zur Bildung mittelkettiger Fettsäurereste in elektronenbestrahlten Fetten

Bei der Einwirkung ionisierender Strahlen auf Fette und Fettsäuren treten als Spaltprodukte  $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $CO$ , Kohlenwasserstoffe<sup>1</sup>, Carbonylverbindungen<sup>2</sup> und Säuren<sup>3</sup> auf. Zur Klärung der Frage, wo die Fettsäurekette aufspaltet, eignet sich die gaschromatographische Spurenanalyse. Zu diesem Zweck wurden Glyceride und freie Fettsäuren nach Bestrahlung mit 100 Mrad (Elektronen, 2 MeV, Van-de-Graaff-Generator) in die Methylester übergeführt.

1. Wie man aus Figur a sieht, treten bei gesättigten Triglyceriden (Tripalmitin) nach Bestrahlung vermehrt Bruchstücke auf, die aus  $C_8$ -Säuren bzw. deren Estern bestehen. (Die in Tripalmitin und Palmitinsäure ohne Bestrahlung enthaltenen mittelkettigen Fettsäuren sind Verunreinigungen.) Besonders stark ist die Bildung von  $C_8^-$ -Säuren (Fettsäurereste mit 8 Kohlenstoffatomen und einer Doppelbindung), etwas weniger die von  $C_7^-$ -Säuren;  $C_6^-$ -Säuren entstehen nur in Spuren ( $C_8^-:C_7^-:C_6^- \approx 1:0,3:0,1$ ). Ausserdem treten geringe Mengen von gesättigten Fettsäureresten auf ( $C_{15} > C_9 > C_{11} > C_7$ ). Aus diesem Ergebnis lässt sich folgern, dass ausser einer Abtrennung der endständigen  $CH_3$ -Gruppen die Aufspaltung der mittelständigen C-C-Bindungen besonders leicht erfolgt ( $\downarrow$ ), wobei vorwiegend ungesättigte, daneben aber auch gesättigte Bruchstücke entstehen (Gl. 1).

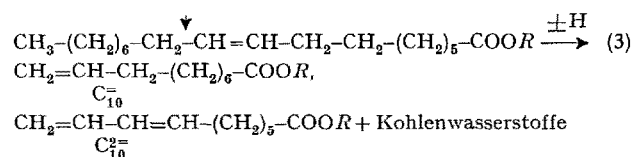
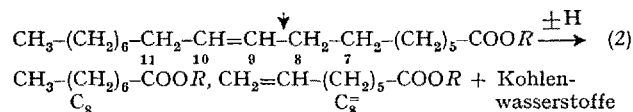


Ähnlich wie Tripalmitin verhält sich auch Rinderfett.

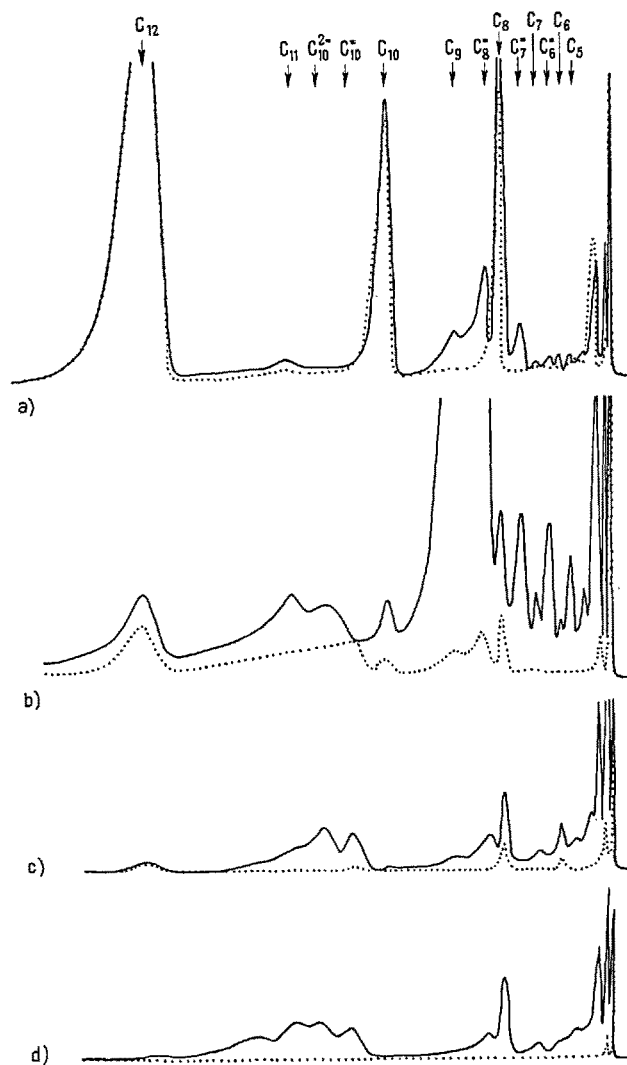
2. In bestrahlter Palmitinsäure (Fig. b) sind die oben beschriebenen Komponenten ebenfalls nachzuweisen. Ausserdem treten noch Bruchstücke auf, die von  $C_{13}$  und wahrscheinlich von  $C_{13}^-$  und  $C_{14}^-$ -Säureresten herrühren. Wie aus den Flächen der Komponenten (Fig. b) ersichtlich, ist Palmitinsäure gegen Bestrahlung weitaus empfindlicher als ihr Triglycerid. Besonders hoch ist die Konzentration an  $C_8^-$ - und  $C_{15}$ -Säuren ( $C_{15} > C_{11} > C_{13}$ ;  $C_8^-:C_7^-:C_6^- \approx 1:0,01:0,007$ ).

3. Bei Fetten mit hohem Gehalt an Ölsäure (Olivenöl) (Fig. c) treten nach Bestrahlung vor allem Verbindungen auf, bei denen es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um  $C_8^-$ ,  $C_{10}^-$ ,  $C_{10}^{2-}$  und  $C_{11}$ -Säurereste handelt. Ausserdem werden geringere Mengen an  $C_8^-$ ,  $C_7^-$  und  $C_9$ -Säuren beobachtet. Ähnlich wie Olivenöl verhält sich auch bestrahltes Erdnussöl (Fig. d). Das Verhältnis der hauptsächlich auftretenden mittelkettigen Säurereste beträgt für

Erdnussöl (100 Mrad):  $C_8^-:C_9^-:C_{10}^-:C_{10}^{2-}:C_{11} \approx 1:0,5:0,9:1,7:1,0$  und für Olivenöl (100 Mrad):  $C_8^-:C_9^-:C_{10}^-:C_{10}^{2-}:C_{11} \approx 1:0,7:1,4:2,2:0,7$ . Daraus folgt, dass der Ölsäurerest weniger an der Doppelbindung als vielmehr bevorzugt an der der Doppelbindung benachbarten C-C-Bindung gespalten wird (Gl. 2 und 3; die Lage der Doppelbindungen in den Produkten ist noch ungeklärt, ebenso das Auftreten von Verzweigungen).



4. Bei Sojaöl mit seinem hohen Gehalt an Linolsäure liegen ähnliche Verhältnisse wie bei Oliven- und Erdnussöl vor. Es treten nur relativ mehr  $C_{11}$ - und  $C_{11}^-$ -Säurereste auf, was dafür spricht, dass die Linolsäure bevorzugt zwischen den beiden Doppelbindungen aufgespalten wird.



Gaschromatographische Spurenanalyse der bei der Bestrahlung auftretenden mittelkettigen Fettsäurereste (getrennt als Methylester).

a) Tripalmitin, b) Palmitinsäure, c) Olivenöl, d) Erdnussöl.  
— bestrahlt mit 100 Mrad, ····· unbestrahlt. (Kolonne: Resoflex R 446, 360 cm, 2,1 atü  $H_2$ , 188°C, eingespritzte Menge 0,05 ml)

<sup>1</sup> C. W. SHEPPARD und V. L. BURTON, J. Amer. chem. Soc. **68**, 1636 (1946). — C. W. SHEPPARD und W. L. WHITEHEAD, Bull. Amer. Ann. Pet. Geol. **30**, 38 (1946). — W. L. WHITEHEAD, C. GOODMAN und I. A. BREGER, J. Chim. phys. **48**, 184 (1951). — R. E. HONIG, Science **104**, 27 (1946).

<sup>2</sup> J. R. CHIPAULT, O. S. PRIVETT, G. R. MIZUNO, E. C. NICKELL und W. O. LUNDBERG, Ind. eng. Chem. **49**, 1713 (1957). — D. A. LANG und B. E. PROCTOR, J. Amer. Oil Chem. Soc. **33**, 237 (1956). — K. TÄUFEL, R. ZIMMERMANN und R. HUBER, Naturwissenschaften **47**, 355 (1960). — L. R. DUGAN und P. W. LANDIS, J. Amer. Oil Chem. Soc. **36**, 535 (1959). — L. A. WITTING und B. S. SCHWEIGERT, J. Amer. Oil Chem. Soc. **35**, 413 (1958).

<sup>3</sup> H. T. SLOVER und L. R. DUGAN, J. Amer. Oil Chem. Soc. **34**, 333 (1957).

**Summary.** Investigations of the chemical changes in fats subjected to cathode rays (100 Mrad) indicated the formation of shorter fatty acid chains. Besides splitting off the terminal methyl groups, especially the medial C-C-bonds are readily split and saturated and unsaturated C<sub>8</sub>-C<sub>11</sub>-fragments are formed. The double bond is relatively resistant, but the C-C-bond near the double bond is easily fractured.

H. LÜCK und R. KOHN  
*Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, München, 2. Dezember 1960.*

Isolement dans le plasma veineux périphérique et surrénalien de l'ester-sulfate de 5-androstène 3β-ol 7,17-dione

La 5-androstène 3β-ol 7,17-dione (7-oxo-DHEA) a été déjà isolée<sup>1</sup> et identifiée<sup>2</sup> dans les urines humaines sans que les modalités de sa conjugaison aient été définies. Nous rapportons ici l'isolement de ce stéroïde dans le plasma veineux périphérique et surrénalien d'une malade porteuse d'une tumeur virilisante surrénalienne<sup>3</sup>, dans la tumeur surrénalienne d'une autre malade, et dans le

en milieu acétique<sup>6</sup>. Une substance ayant le comportement chromatographique et chimique de l'ester-sulfate de 7-oxo-DHEA (S-7-oxo-DHEA) de synthèse tel qu'il est décrit plus loin, a été mis en évidence. Après solvolys<sup>7</sup> des mêmes éluats acéto-alcooliques de la colonne de florasil, les stéroïdes libres ont été chromatographiés sur papier dans le système hexane-benzène (1-1)-propanediol; on a mis en évidence un composé réagissant avec le métadinitrobenzène, bleu en lumière de Wood après action du Sb Cl<sub>3</sub>, absorbant sur papier à 250 mμ et ayant la polarité de la 7-oxo-DHEA de synthèse. Son acétate rechromatographié dans le système heptane-2-phénoxyéthanol se comportait comme celui de 7-oxo-DHEA.

Au total, la solubilité initiale dans le méthanol à l'exclusion du benzène et du dichlorométhane, les comportements en chromatographie d'adsorption et de partage, la réaction au bleu de méthylène et la solvolys<sup>7</sup> par l'acétate d'éthyle témoignent de la sulfo-conjugaison du stéroïde. Celui-ci d'après l'absorption UV, les réactions de coloration, sa polarité et celle de son acétate, ne peut être que de la 7-oxo-DHEA. La conjonction de toutes ces données, compte tenu de la grande sélectivité des systèmes de chromatographie employés, constitue une identification qui, pour être incomplète, semble cependant suffisante. Les quantités trop faibles de produit ne nous ont pas

|                                                 | Cas 1<br>virilisme<br>tumeur<br>surrénalienne | Cas 2<br>virilisme<br>tumeur<br>surrénalienne | Cas 3<br>syndrome<br>de Cushing<br>carcinome<br>surrénalien | Cas 4<br>virilisme | Cas 5<br>hirsutisme | Cas 6<br>hirsutisme<br>+ ACTH |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|-------------------------------|
| <i>Tumeur surrénalienne</i> <sup>a</sup>        |                                               |                                               |                                                             |                    |                     |                               |
| S-DHEA                                          | 120                                           | 500                                           | 150                                                         | —                  | —                   | —                             |
| S-7-oxo-DHEA                                    | +°                                            | +°                                            | +                                                           | —                  | —                   | —                             |
| <i>Sang exsudé de la surrénale</i> <sup>b</sup> |                                               |                                               |                                                             |                    |                     |                               |
| S-DHEA                                          | 500                                           | —                                             | —                                                           | —                  | —                   | —                             |
| S-7-oxo-DHEA                                    | +                                             | —                                             | —                                                           | —                  | —                   | —                             |
| <i>Sang veineux surrénalien</i> <sup>b</sup>    |                                               |                                               |                                                             |                    |                     |                               |
| S-DHEA                                          | 535                                           | —                                             | —                                                           | —                  | —                   | —                             |
| S-7-oxo-DHEA                                    | 100                                           | —                                             | —                                                           | —                  | —                   | —                             |
| <i>Sang veineux périphérique</i> <sup>b</sup>   |                                               |                                               |                                                             |                    |                     |                               |
| S-DHEA                                          | 340                                           | 800                                           | 180                                                         | 100                | 50                  | 100                           |
| S-7-oxo-DHEA                                    | 60                                            | +°                                            | 65                                                          | 15                 | 20                  | +                             |

<sup>a</sup> μg/tumeur  
<sup>b</sup> μg/100 ml plasma

S-DHEA et S-7-oxo-DHEA

+ = détecté, non mesuré  
° = identité probable, mais non vérifiée

plasma veineux périphérique d'autres sujets. Nous démontrons la sulfoconjugaison de ce stéroïde. C'est le quatrième ester-sulfate de 17-CS isolé dans le sang<sup>4</sup>.

Chez une malade porteuse d'une tumeur cortico-surrénalienne, 40 ml de plasma périphérique et 30 ml de plasma veineux surrénalien ont été étudiés ainsi que 15 ml de sang exsudé de la tumeur pendant les manipulations précédant son broyage. Après lyophilisation ils ont été extraits au Kumagawa par l'hexane, le benzène et le dichlorométhane et, dans cette fraction contenant des graisses et des stéroïdes libres, nous n'avons pas trouvé de 7-oxo-DHEA. Chaque résidu a été extrait ensuite par le méthanol; cette fraction alcoolique a été chromatographiée sur florasil et les éluats acéto-méthanoliques et acéto-éthanoliques (98-2) ont été étudiés par chromatographie sur papier dans les systèmes B 5-10<sup>4</sup> et B 23-9 (non publié).

Les chromatogrammes ont été traités par le réactif de Zimmermann, le réactif au bleu de méthylène pour les esters-sulfates selon CRÉPY<sup>5</sup> et le trichlorure d'antimoine

1 S. LIEBERMAN, K. DOBRINER, B. R. HILL, L. F. FIESER et C. P. RHOADS, *J. biol. Chem.* **172**, 263 (1948).

2 D. K. FUKUSHIMA, A. D. KEMP, R. SCHNEIDER, M. B. STOKEM et T. F. GALLAGHER, *J. biol. Chem.* **210**, 129 (1954).

3 E. E. BAULIEU, *C. R. Acad. Sci.* **215**, 1421 (1960).

4 E. E. BAULIEU, *J. clin. Endocrinol. Metab.* **20**, 900 (1960).

5 O. CRÉPY et O. JUDAS, *Rev. Fse. Et. Clin. Biol.* **5**, 284 (1960).

6 R. NEHER et A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **34**, 2278 (1951).

7 S. BURSTEIN et S. LIEBERMAN, *J. biol. Chem.* **233**, 331 (1959).

8 J. R. BILLETTER et K. MIESCHER, *Helv. chim. Acta* **31**, 629 (1948).

9 H. B. KAGAN et J. JACQUES, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1960**, 1551.

10 K. DOBRINER, E. R. KATZENELLENBOGEN et R. N. JONES, *Infrared Adsorption Spectra of Steroids. An Atlas* (Interscience Inc., New York 1953).

11 R. EMILIOZZI, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1960**, 911.

12 S. WEINMANN, Pastille de bromure de potassium. Appareil PEC 13.

13 S. BERGSTRÖM et O. WINTERSTEINER, *J. biol. Chem.* **141**, 597 (1941); **143**, 503 (1942); **145**, 509 (1942).

14 T. F. GALLAGHER, *J. clin. Endocrinol. Metab.* **18**, 937 (1958).

15 D. K. FUKUSHIMA, T. F. GALLAGHER, W. GREENBERG et O. H. PEARSON, *J. clin. Endocrinol. Metab.* **20**, 1234 (1960).