

**Stefan Spathelf**

Bestimmung von androgenen und  
antiandrogenen Substanzen in wässrigen  
Umweltproben mit biologischen und  
chemischen Methoden

**Diplomarbeit**

## **Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek:**

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de/> abrufbar.

Dieses Werk sowie alle darin enthaltenen einzelnen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsschutz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlanges. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen, Auswertungen durch Datenbanken und für die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronische Systeme. Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdrucks, der fotomechanischen Wiedergabe (einschließlich Mikrokopie) sowie der Auswertung durch Datenbanken oder ähnliche Einrichtungen, vorbehalten.

Copyright © 1999 Diplomica Verlag GmbH  
ISBN: 9783832489816

**Stefan Spathelf**

**Bestimmung von androgenen und antiandrogenen  
Substanzen in wässrigen Umweltproben mit biologischen und chemischen Methoden**

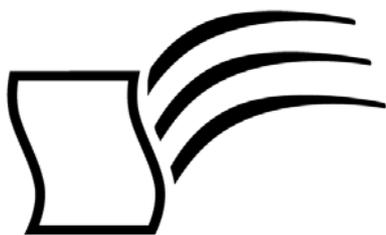


---

Stefan Spathelf

# **Bestimmung von androgenen und antiandrogenen Substanzen in wässrigen Umweltproben mit biologischen und chemischen Methoden**

Diplomarbeit  
Fachhochschule und Berufskollegs NTA, Isny/Allgäu  
Fachbereich Chemie  
Abgabe September 1999



***Diplom.de***

Diplomica GmbH \_\_\_\_\_  
Hermannstal 119k \_\_\_\_\_  
22119 Hamburg \_\_\_\_\_

Fon: 040 / 655 99 20 \_\_\_\_\_  
Fax: 040 / 655 99 222 \_\_\_\_\_

agentur@diplom.de \_\_\_\_\_  
www.diplom.de \_\_\_\_\_

ID 8981

Spathelf, Stefan: Bestimmung von androgenen und antiandrogenen Substanzen in wässrigen Umweltproben mit biologischen und chemischen Methoden

Hamburg: Diplomica GmbH, 2005

Zugl.: Fachhochschule und Berufskollegs NTA, Isny/Allgäu, Diplomarbeit, 1999

---

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtes.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Die Informationen in diesem Werk wurden mit Sorgfalt erarbeitet. Dennoch können Fehler nicht vollständig ausgeschlossen werden, und die Diplomarbeiten Agentur, die Autoren oder Übersetzer übernehmen keine juristische Verantwortung oder irgendeine Haftung für evtl. verbliebene fehlerhafte Angaben und deren Folgen.

Diplomica GmbH

<http://www.diplom.de>, Hamburg 2005

Printed in Germany

## VORWORT

Die vorliegende Diplomarbeit wurde in der Zeit vom 15. März 1999 bis zum 15. September 1999 am Institut für Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Arbeitskreis Prof. Hagenmaier, durchgeführt.

Ermöglicht wurde das Anfertigen dieser Arbeit durch Herrn Prof. Hanspaul Hagenmaier, dem mein ganz besonderer Dank gebührt. Er hat mir dieses überaus interessante Thema zur Verfügung gestellt.

Zudem möchte ich mich besonders bei Herrn Dr. Wolfgang Körner für die sehr gute Betreuung der Diplomarbeit, die gute Zusammenarbeit und dafür, dass er sich immer viel Zeit für mich genommen hat, bedanken.

Des Weiteren gebührt ein besonderer Dank Herrn Dr. Kurt Grillenberger, der die Aufgabe des Referenten für die Diplomarbeit übernommen hat. Er brachte viel Interesse für das Themengebiet auf und hat seitens der Fachhochschule für ein unkompliziertes Gelingen der Arbeit gesorgt.

Einen großen Dank hat überdies Herr Dr. Winfried Schuller verdient, der mir immer mit zahlreichen fachlichen Ratschlägen zur Seite stand und stets für aufheiternde Momente sorgte, sowie Ulrike Bolz, die mich bei der chemischen Analytik sehr unterstützt hat.

Allen Mitarbeitern der ersten Etage des Medizinisch-Naturwissenschaftlichen Forschungszentrums möchte ich ebenfalls danken. Sie haben sehr zu einer angenehmen und heiteren Arbeitsatmosphäre und damit auch zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Abschließend danke ich allen Freunden, die mich beim Anfertigen der Diplomarbeit, wahrscheinlich oft ohne es zu wissen, unterstützt haben.

Ich hoffe, dass ich auch weiterhin viel Zeit mit all den netten Leuten verbringen kann, die ich während meiner Zeit in Tübingen kennen gelernt habe.

Hiermit versichere ich, dass diese Diplomarbeit von mir selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe durchgeführt wurde.

Tübingen, den 15. September 1999

Stefan Spathelf

# INHALTSVERZEICHNIS

VORWORT .....	i
INHALTSVERZEICHNIS .....	iii
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	v
ZUSAMMENFASSUNG.....	vii
1 EINLEITUNG .....	1
2 THEORETISCHER TEIL.....	3
2.1 Substanzen mit hormonartiger Wirkung .....	3
2.1.1 Androgene Substanzen .....	3
2.1.2 Antiandrogene Substanzen .....	6
2.1.3 Östrogene und Gestagene .....	9
2.2 Weitere Substanzen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden .....	10
2.2.1 Triphenylmethanderivate .....	10
2.2.2 $\alpha$ -Hexylzimtaldehyd .....	11
2.2.3 Tris(2-chlorethyl)-phosphat (TCEP) .....	11
2.2.4 Cortisol (Hydrocortison).....	11
2.2.5 $\beta$ -Sitosterol.....	12
2.3 Untersuchung auf (anti-)androgene Substanzen.....	12
2.3.1 Probenvorbereitung .....	13
2.3.2 Biologisches Screening .....	14
2.3.3 Chemische Spurenanalytik.....	19
3 EXPERIMENTELLER TEIL.....	23
3.1 Aufgabenstellung .....	23
3.2 Herstellung der verwendeten Lösungen .....	23
3.3 Biologische Analytik.....	25
3.3.1 Verschiedene allgemeine Methoden.....	25
3.3.2 Übertragung der Methode von Szelei et al. auf die hiesigen Laborbedingungen .....	26
3.3.3 Bestimmung der Abweichung innerhalb einer Zellkulturplatte.....	28
3.3.4 Übertragung auf 96-Well-Zellkulturplatten .....	29
3.3.5 Vergleich von Zellkulturplatten verschiedener Hersteller.....	30
3.3.6 Vergleich verschiedener Detektionsmethoden .....	30
3.3.7 Optimierung der Zellzahl und des Gehaltes an FBS im Kulturmedium.....	34
3.3.8 Vergleich zwischen Transferrin und Holo-Transferrin.....	37
3.3.9 Einfluss der Inkubationsdauer .....	38
3.3.10 Abweichung der Methode.....	39
3.3.11 Einfluss von Lösungsmitteln.....	40
3.3.12 Test verschiedener bekannter Antiandrogene .....	40
3.3.13 Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Bicalutamid.....	42
3.3.14 Probenvorbereitung für wässrige Umweltproben.....	44
3.3.15 Zusammenfassung der Methode .....	44
3.3.16 Untersuchung von Einzelsubstanzen.....	47
3.3.17 Untersuchung von Umweltproben.....	54
3.4 Chemische Analytik.....	59
3.4.1 Entwicklung der GC/MS-Methode .....	59
3.4.2 Linearität .....	62
3.4.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenze.....	65
3.4.4 Probenvorbereitung für Umweltproben .....	65
3.4.5 Wiederfindung.....	65
3.4.6 Zusammenfassung der Methode .....	66
3.4.7 Untersuchung von Umweltproben.....	68

4	DISKUSSION .....	73
5	ANHANG .....	75
	5.1 Massenspektren und Chromatogramme.....	75
	5.1.1 5 $\alpha$ -Androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol .....	75
	5.1.2 Androsteron .....	76
	5.1.3 Etiocholan-3 $\alpha$ -ol-17-on.....	77
	5.1.4 Epiandrosteron .....	78
	5.1.5 5 $\alpha$ -Dihydrotestosteron.....	79
	5.1.6 Testosteron.....	80
	5.1.7 4-Androsten-3,17-dion.....	81
	5.1.8 Methyltestosteron .....	82
	5.1.9 $\beta$ -Sitosterol.....	83
	5.2 Verwendete Materialien .....	84
	5.2.1 Geräte.....	84
	5.2.2 Chemikalien.....	84
	5.2.3 Verbrauchsmaterialien .....	87
6	LITERATURVERZEICHNIS .....	89
7	LEBENS LAUF .....	93

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<b>BG</b>	Bestimmungsgrenze
<b>BrdU</b>	5-Brom-2'-desoxy-uridin
<b>CDFBS</b>	Charcoal-Dextrane treated FBS
<b>DMEM</b>	Dulbecco's Modified Eagle Medium
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>FBS</b>	Fetal Bovine Serum
<b>HEPES</b>	2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-ethansulfonsäure
<b>MTT</b>	3-(4,5-di-methyldiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
<b>n</b>	Anzahl der Versuche
<b>NG</b>	Nachweisgrenze
<b>RAAE</b>	Relativer antiandrogener Effekt
<b>Rel. Ext.</b>	Relative Extinktion
<b>RT</b>	Retentionszeit
<b>SAR</b>	Standardabweichung innerhalb einer Zellkulturplatte
<b>SAV</b>	Standardabweichung zwischen verschiedenen Versuchen
<b>IU</b>	International Units
<b>GC/MS</b>	Gaschromatografie/Massenspektrometrie