

Brigitte Fuchs, Jochen Lehmann und Sigrid Paech

## Notiz zur Tritium-Markierung der Acetylgruppen von Polyol-acetaten durch Tritium-Wasser in Pyridin mit technischem Silber(I)-fluorid

Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.

(Eingegangen am 19. Oktober 1970)

Peracetylierte Monosaccharide und Glykoside wie Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose und Methyl-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid bauen Tritium ein, wenn die Verbindungen in Pyridin mit käuflichem, rohem Silber(I)-fluorid und einer geringen Menge Tritium-Wasser bei Raumtemperatur geschüttelt werden<sup>1)</sup>. Die Radioaktivität fand sich nach Verseifen der Ester mit Natronlauge ausschließlich im Natriumacetat. Ungeklärt blieb, wieviele und welche der verschiedenen Acetylgruppen markiert werden und ob eine derartige Tritiierung nur bei Zuckeracetaten möglich ist.

Versuche an einer Reihe von *O*-Acetylverbindungen zeigten, daß offenbar eine unspezifische Markierung erfolgt und dies nur, wenn mindestens zwei Acetylgruppen räumlich benachbart sind. Die Markierung konnte nur bei Estern der Essigsäure nachgewiesen werden. Ester anderer Carbonsäuren wurden unter den beschriebenen Reaktionsbedingungen nicht tritiert (s. Tab. 1).

Unter konstanten Reaktionsbedingungen wächst die molare Einbaurrate bei den verschiedenen Polyolacetaten mit der Anzahl der Acetylgruppen (s. Tab. 2).

Die Tatsache, daß bei Erniedrigung der Substratkonzentration, z. B. an Hexa-*O*-acetyl-D-sorbit, bei gleichbleibender Menge des Tritiierungsgemisches die spezifische Aktivität der markierten Acetylverbindungen steigt (s. Tab. 2), spricht für eine Gleichgewichtseinstellung zwischen den Wasserstoffatomen des Tritium-Wassers und den Wasserstoffatomen der Acetylgruppen. Wie der H–T-Austausch katalysiert wird, bleibt ungeklärt. Bisher hat sich nur technisches Silber(I)-fluorid in Pyridin als katalytisch wirksam erwiesen. Reines Silber(I)-fluorid und reines Silber(II)-fluorid sowie frischgefälltes Silber(I)-oxid und frischgefälltes metallisches Silber sind ebenso ohne Wirkung wie technisches Silber(I)-fluorid in anderen Lösungsmitteln<sup>1)</sup>.

Unter optimierten Versuchsbedingungen wurden bei gegebener Konzentration an Tritium-Wasser (maximal 0.1 *m* in Pyridin) 32% der eingesetzten Radioaktivität in den Hexa-*O*-acetyl-D-sorbit eingebaut.

Die beschriebene Methode eignet sich nicht nur zum Nachweis kleinster Mengen von Polyolacetaten durch Tritium-Markierung und anschließende Cokristallisation oder Cochromatographie mit den entsprechenden authentischen Verbindungen, sondern auch zur billigen und einfachen präparativen Darstellung von Per-*O*-[tritium]acetyl-polyolen und damit auch von [Tritium]essigsäure.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft dankt J. L. für eine Sachbeihilfe, S. P. für eine Personalthilfe.

<sup>1)</sup> J. Lehmann, Carbohydrate Res. [Amsterdam] 4, 196 (1967).

<sup>2)</sup> E. Sorkin und T. Reichstein, Helv. chim. Acta 28, 1 (1945).

Tab. 1. Tritium-Markierung von Polyolacetaten, qualitativ

Ester	Anzahl Esterfunktionen im Molekül	Markierung <sup>a)</sup>
Cyclohexylacetat	1	nein
[2-Methoxy-äthyl]-acetat	1	nein
1.3-Diacetoxy-aceton-dimethylacetal	2	ja
<i>trans</i> -Chinitdiacetat	2	nein
Äthylenglykoldiacetat	2	ja
Äthylenglykol-di- <i>n</i> -valerat	2	nein
Adipinsäure-diäthylester	2	nein
Methyl-2- <i>O</i> -methyl-3.4.6-tri- <i>O</i> -acetyl- $\beta$ -D-galaktopyranosid <sup>2)</sup>	3	ja
Glycerintribenzoat	3	nein
Tristearin	3	nein
Methyl-tetra- <i>O</i> -acetyl- $\beta$ -D-galaktopyranosid	4	ja
Hexa- <i>O</i> -acetyl-D-sorbit	6	ja
<i>myo</i> -Inosithexaacetat	6	ja
Octa- <i>O</i> -acetyl-saccharose	8	ja

<sup>a)</sup> Festgestellt durch Auswertung der Dünnschichtchromatogramme mit einem fensterlosen Isotopenzählgerät.

Tab. 2. Tritium-Markierung von Polyolacetaten, quantitativ

Polyolacetat	Acetyl- gruppen im Molekül	Einwaagen <sup>a)</sup>		Zählraten <sup>b)</sup>	
		Substrat $\mu$ Mol	AgF mg	Imp/Min. je $\mu$ Mol	Imp/Min. je CH <sub>3</sub> CO
1.3-Diacetoxy-aceton-dimethylacetal	2	168	85	27 500	13 800
Methyl-2- <i>O</i> -methyl-3.4.6-tri- <i>O</i> -acetyl- $\beta$ -D-galaktopyranosid <sup>2)</sup>	3	167	85	44 500	14 800
Hexa- <i>O</i> -acetyl-D-sorbit	6	172	89	68 500	11 500
		(83)	84	101 500	16 900
Octa- <i>O</i> -acetyl-saccharose	8	166	84	100 500	12 600

<sup>a)</sup> 6 Std. geschüttelt mit 500  $\mu$ l 0.1 *m* Tritium-Wasser in Pyridin.

<sup>b)</sup> Bestimmt durch Flüssigkeitsszintillationszählung.

## Beschreibung der Versuche

### Allgemeine Methoden

Zur Anfertigung von Dünnschichtchromatogrammen wurden DC-Fertigplatten Kieselgel F<sub>254</sub> (E. Merck, Darmstadt) verwendet. Als Laufmittel diente Äther/Petroläther (50:–70°) (8:2 v/v). Ausgewertet wurden die Chromatogramme mit Hilfe eines fensterlosen Isotopenzählgerätes (Modell 380, Packard Instrument Co.).

Die eingebaute Tritium-Aktivität wurde quantitativ bestimmt durch Flüssigkeitsszintillationszählung (720 Series Liquid Scintillation System, Nuclear Chicago Co.) der abgewogenen Polyolacetate (ca. 5 mg), gelöst in Methanol (3 ccm) und Scintillationsflüssigkeit (12 ccm; Basis Toluol).

### Markierung von Polyolacetaten mit Tritium

Aus Tritium-Wasser (spez. Aktivität ca. 0.1 Ci/g) und absol. Pyridin wird eine ca. 0.1 *m* Standardlösung bereitet und bei 0° aufbewahrt. Zur Markierung wird ungefähr 1/3 mMol *Polyolacetat* in 1 ccm Standardlösung mit ca. 160 mg technischem Silber(1)-fluorid (Th.

Schuchardt, München) versetzt. Nach 6stdg. Schütteln unter Feuchtigkeitsausschluß wird das braune Reaktionsgemisch zu 50 ccm einer Chloroformlösung gegeben, die eine ca. zehnfache Menge an entsprechender unmarkierter Verbindung enthält. Zur Entfernung von überschüssigem Tritium-Wasser wird fünfmal mit je 10 ccm dest. Wasser gewaschen; kolloidal gelöste Silbersalze werden durch kurzes Erwärmen mit etwas Aktivkohle und anschließendes Filtrieren entfernt. Die klare Lösung wird über Sikkon getrocknet, vollständig eingengt und das anfallende *Polyolacetat* aus Äthanol umkristallisiert.

*Hexa-O-[tritium]acetyl-D-sorbit*: 2.89 g (6.67 mMol) *Hexa-O-acetyl-D-sorbit* werden in 20 ccm einer Lösung von *Tritium-Wasser* in Pyridin (Zählrate, bezogen auf die Gesamtmenge,  $5 \times 10^8$  Imp/Min.) mit 2.4 g technischem *Silber(I)-fluorid* 6 Std. unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Das Reaktionsgemisch wird dann unter Rühren in 500 ccm Äther gegeben, mit 2 g Aktivkohle und 10 g Sikkon versetzt, noch 1 Stde. weitergerührt und anschließend abfiltriert. Der Rückstand im Filter wird mit weiteren 200 ccm Äther extrahiert. Die vereinigten Extrakte ergeben nach Abdestillieren des Lösungsmittels einen kristallinen Rückstand. Die Substanz wird bis zur konstanten spez. Aktivität (dreimal) umkristallisiert. Reinausb. 2.56 g (88%), Zählrate  $1.6 \times 10^8$  Imp/Min., 32% des ursprünglich eingesetzten Tritiums enthaltend.

Wie früher<sup>1)</sup> beschrieben, läßt sich markiertes Natriumacetat durch Verseifung des *markierten Esters* mit *Natronlauge* gewinnen. Das aus äthanol. Lösung mit Aceton gefällte und über  $P_4O_{10}$  getrocknete *Natrium-[tritium]acetat* (Ausb. 90%, Zählrate  $1.4 \times 10^8$  Imp/Min.) enthält von der mit dem Tritium-Wasser eingesetzten Aktivität 28% (Radioisotopenausb.).

[363/70]