

50. Die Bestimmung von aktiven Wasserstoffatomen in organischen Verbindungen mit Hilfe der H, D-Isotopenanalyse

von H. Erlenmeyer, A. Epprecht, H. Lobeck und Hans Gärtner.

(15. II. 36.)

Wir erwähnten schon in unserer Mitteilung über die Analyse H- und D-haltiger, organischer Verbindungen¹⁾, dass die dort beschriebene Methode es erlauben wird, in einfacher Weise in organischen Verbindungen die Zahl der aktiven H-Atome zu bestimmen. Die folgenden Versuche sollen zeigen, in welcher Weise solche Bestimmungen durchgeführt werden können und welche Faktoren für das Ergebnis bestimmend sind.

Als besonders geeignet zur Untersuchung müssen solche Stoffe gelten, bei denen durch blosses Umkrystallisieren aus D₂O-haltigem Wasser ein Eintausch der aktiven H-Atome gegen D-Atome erreicht werden kann. Die Zahl der im auskrystallisierten Produkt enthaltenen D-Atome wird nun nicht nur von der Konzentration des D₂O im Wasser abhängen, sondern auch von den Dissoziationsverhältnissen des D₂O—H₂O-Gemisches und des D- und H-haltigen Stoffes.

1. Versuche mit Benzoesäure.

Um einen Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen, haben wir in einem ersten Versuch Benzoesäure aus einem D₂O—H₂O-Gemisch umkrystallisiert, in dem das Verhältnis D : H — mit Einschluss der durch die Carboxylgruppe der Benzoesäure eingeführten H-Atome — möglichst gleich 1 : 1 ist.

Versuch: Das Wassergemisch wurde hergestellt aus 4,2278 g D₂O 99,6% und 3,7887 g H₂O. In 5,3665 g dieses Gemisches wurden 0,16066 g Benzoesäure durch Erwärmen gelöst. Nach dem Lösen der Benzoesäure ist das Verhältnis der ionisierbaren Wasserstoffatome H : D = 1,007. Die sich in der Kälte abscheidende Benzoesäure wird getrocknet und durch sorgfältige Sublimation im Vakuum gereinigt. Smp.: 118,5° (C₆H₅COOH: 121,7). Die Verbrennung von 0,0703 g Substanz ergab 0,02622 g D₂O. Daraus berechnet sich die Zahl der D-Atome in der Molekel zu $x = 0,473$. Es ist also das Verhältnis

$$\frac{C_6H_5 \cdot COOH}{C_6H_5 \cdot COOD} = 1,117$$

gegenüber dem angegebenen Verhältnis in der Lösung H : D = 1,007.

Die Säure enthält also mehr C₆H₅ · COOH- als C₆H₅COOD-Molekel, was durch die Dissoziationsverhältnisse zu verstehen ist. Es gilt:

$$\frac{C_6H_5 \cdot COO' \times H \cdot}{C_6H_5 \cdot COOH} = K_H \qquad \frac{C_6H_5 \cdot COO' \times D \cdot}{C_6H_5 \cdot COOD} = K_D$$

und daraus

$$\frac{C_6H_5 \cdot COOH}{C_6H_5 \cdot COOD} = \frac{H \cdot \times K_D}{D \cdot \times K_H}$$

¹⁾ Helv. **19**, 129 (1936).

Es hängt das Verhältnis also ab von den Quotienten $H' : D'$ und $K_D : K_H$. Die Dissoziationskonstanten von D_2O und H_2O verhalten sich ungefähr wie 1 : 3¹⁾, ähnlich wird auch die Molekel HOD die Dissoziationsform $HOD = H' + OD'$ gegenüber $HOD = D' + OH'$ bevorzugen. Der Quotient für $K_D : K_H$ ist für die verschiedenen Säuren verschieden¹⁾. Ist

$$H' : D' > \frac{1}{K_D : K_H}$$

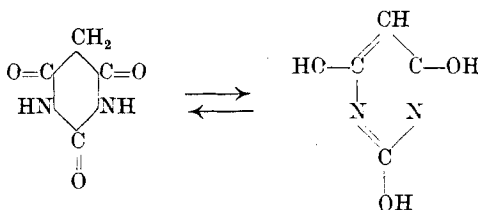
so wird die Konzentration der undissoziierten H-Verbindung grösser sein als die Konzentration der undissoziierten D-Verbindung. Die sich abscheidenden Krystalle werden eine, diesem Konzentrationsverhältnis entsprechende Zusammensetzung aufweisen. Für die Benzoesäure kann auf Grund der Analyse auf obige Beziehung

$$\frac{H'}{D'} > \frac{K_H}{K_D}$$

geschlossen werden. Bei Kenntnis von $K_H : K_D$ könnte $H' : D'$ berechnet werden.

2. Versuche mit Barbitursäure.

Barbitursäure, d. i. Malonyl-harnstoff, ist eine starke Säure und liegt in wässriger Lösung in einem Keto-Enol- und Lactam-Lactim-Gleichgewicht²⁾ vor:



Metalle können zwei Wasserstoffatome ersetzen. Es war daher interessant zu erfahren, wieviel austauschfähige Wasserstoffatome in der Molekel enthalten sind.

a) Versuche mit einer $H_2O : D_2O = 1 : 1$ -Lösung. Von einer Barbitursäure, die leicht durch Trocknen bei 110° krystallwasserfrei erhalten werden kann — (H_2O -Verlust beim Trocknen für 2 H_2O : Ber. 21,96%; Gef. 22,03%) — wurden 1,0000 g in 5,4975 g eines Wassergemisches gelöst, welches gewonnen war aus 8,0279 g D_2O 99,6% und 7,1683 g H_2O . Durch Erwärmen auf 100° wurde die Barbitursäure in Lösung gebracht und nach 20 Minuten wurde durch Abkühlen eine Krystallabscheidung erzielt. Die Krystalle

¹⁾ Siehe *H. C. Urey* und *C. K. Teal*, *Rev. modern Physics* 7, 60 (1935); für Wasser ist der Quotient $K_H : K_D \sim 3$, für Essigsäure 3,5, für $CH_2Cl \cdot COOH \sim 2,7$, für $NH_4OH \sim 1,5$.

²⁾ Siehe *W. Hückel*, *Theoretische Grundlagen der organischen Chemie*, Bd. 1, S. 191, 1. Aufl. 1931.

wurden in einer mit Toluoldampf erwärmten Trockenpistole getrocknet.

0,11008 g Substanz ergaben bei der Verbrennung 0,01383 g D₂O, woraus sich die Zahl der D-Atome in der Molekel berechnet zu $x = 1,629$. Um aus diesem Wert die Zahl der austauschenden Wasserstoffatome zu erhalten, muss einmal berücksichtigt werden die benutzte D₂O-H₂O-Konzentration und sodann die Verdünnung, die dieses Gemisch durch die austauschenden H-Atome der Barbitursäure erfährt. Für eine Berechnung gilt folgende Formel, in der bedeutet:

- g = Substanz zum Austausch in Gramm
- M = Leichtes Mol.-gewicht dieser Substanz
- h = Wasser zum Austausch in Gramm
- m_1 = Mol.-proz. D₂O vor Austausch
- x = Anzahl der Deuteriumatome in einer Molekel nach dem Austausch¹⁾
- t = Anzahl der austauschenden Wasserstoffatome in einer Molekel

$$t = \frac{x}{0,01 m_1 - \frac{x \cdot g}{M \cdot h} (0,01 m_1 + 9)}$$

Für den obigen Versuch berechnet sich aus $x = 1,629$ ein Wert für $t = 3,259$.

Um dieses Ergebnis richtig deuten zu können, haben wir noch weitere Versuche mit 99,6-proz. D₂O gemacht.

b) Versuche mit 99,6-proz. D₂O.

Versuch I. 2,3510 g D₂O 99,6% und 0,4282 g Barbitursäure während 20 Minuten bei 100° in Lösung. Die Verbrennung von 0,09112 g Substanz ergab 0,023342 g D₂O, woraus sich die Zahl der D-Atome in der Molekel berechnet zu $x = 3,365$. Nach der angegebenen Formel wird $t = 3,55$.

Versuch II. 3,1021 g D₂O 99,6% und 0,4311 g Barbitursäure während zwei Minuten in Lösung. Die Verbrennung von 0,12950 g Substanz ergab 0,034065 g D₂O. Es berechnet sich $x = 3,458$, $t = 3,609$.

Aus den Ergebnissen lässt sich entnehmen, dass alle vier Wasserstoffatome ausgetauscht haben, entsprechend dem angeführten tautomeren Gleichgewicht. Dass auch bei den Versuchen mit 99,6% D₂O nicht $t = 4$ gefunden wird, ist auf die Verdünnung des D₂O durch die H-Atome aus der Barbitursäure und die dadurch veränderten Dissoziationsverhältnisse zurückzuführen. Es verhält sich nach dem Austausch D₂O : H₂O im Versuch I wie 18,08 : 1, im Versuch II wie 23,04 : 1. Die bevorzugte Dissoziationsform H' + OD' bewirkt eine weitere Verschiebung, so dass bei $K_{H,O} : K_{D,O} = 3$ und bei einem Quotienten $K_D : K_H \approx \frac{1}{1,6}$ die gefundene Abhängigkeit von der Verdünnung sich angenähert berechnen lässt.

3. Versuche mit Phenacetin.

Die Versuche wurden mit dem gleichen Wasser ausgeführt, H₂O : D₂O = 1 : 1, dessen Zusammensetzung bei den Versuchen mit Barbitursäure angegeben worden ist. Da Phenacetin sich in Wasser

¹⁾ Siehe Helv. 19, 143 (1936).

schwer löst, wurde in drei Stufen unter Verwendung des gleichen Wassers die notwendige Substanzmenge gewonnen.

	Wasser	Substanz	Ausbeute
1)	9,5845 g	0,1086 g	0,05 g
2)	9,25 g	0,044 g	0,025 g
3)	8,95 g	0,047 g	0,033 g

Die Verbrennung von 0,09763 g Substanz ergab 0,0024214 g D₂O, woraus sich berechnet $x = 0,44505$. Die Zahl der austauschenden Wasserstoffatome in der Molekel ist $t = 0,8928$.

Für die Abweichungen von dem Wert 1 für Phenacetin, d. i. $\text{CH}_3\text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{OC}_2\text{H}_5$, gelten die gleichen Faktoren wie bei der Barbitursäure. Die Messungen zeigen, dass von der Seitenkette $\cdot \text{NH} \cdot \text{COCH}_3$ nur der Wasserstoff der NH-Gruppe austauschfähig ist.

Die störende Wirkung der Dissoziationsverhältnisse auf die Ganzzahligkeit der Werte für t kann selbstverständlich durch wiederholtes Umkrystallisieren aus 100-proz. D₂O behoben werden. Bei Verbindungen mit unbekannter Konstitution wird dieses Vorgehen, um Undeutlichkeiten zu vermeiden, zu empfehlen sein.

Anstalt für anorganische Chemie, Basel.

51. Sexualhormone XIII¹⁾. Bereitung des 17-Äthyl-testosterons und der 3-trans,17-cis-Diole des Androstans und Androstens.

Weitere Beiträge zur Spezifität der Sexualhormone

von L. Ruzicka und H. R. Rosenberg.

(15. II. 36.)

In früheren Abhandlungen²⁾ haben wir die Umsetzung von Androsteron (Androstan-3-cis-ol-17-on) und von trans-Androsteron (V) (Androstan-3-trans-ol-17-on), sowie von Dehydro-trans-androsteron (I) (Δ⁵-Androsten-3-trans-ol-17-on) mit Methylmagnesiumjodid und mit Äthylmagnesiumjodid beschrieben. In ersterem Falle erhielt man die drei erwarteten 17-Methyl-3,17-diole. Wir haben daher angenommen, dass auch die Umsetzungsprodukte der drei Ketoverbindungen mit Äthylmagnesiumjodid aus den entsprechenden 17-Äthyl-3,17-diolen bestehen. Erneute Versuche mit grösseren Mengen trans-Androsteron und Dehydro-trans-androsteron zeigten uns, dass bei der Umsetzung mit Äthylmagnesiumjodid Gemische von Diolen entstehen, die sich durch ihre verschiedene Löslichkeit unterscheiden. Das schwerer lösliche Diol erwies sich in beiden Fällen als das normale Kondens-

¹⁾ XII. Mitt. Helv. **19**, 107 (1936).

²⁾ Helv. **18**, 996, 1496—1498 (1935).