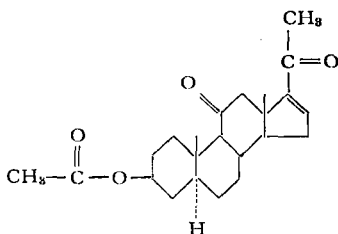


# $\Delta^{16}$ -娠烯-3 $\beta$ -乙酰氧基-11:20-二酮的极谱测定

曾紀琰 周同惠

(中国医学科学院药物研究所分析室, 北京)

Adkins 和 Cox<sup>[1]</sup> 首先报导了具有  $\alpha$ 、 $\beta$  不饱和双键的酮基甾体化合物的极谱波。其后许多工作者研究用不同 pH 值的缓冲溶液、碱金属氯化物及四烷基卤化物或氢氧化物的水-醇溶液作基底液, 使甾体化合物分子上具有邻近不饱和键的 3-酮基<sup>[2-13]</sup> 或 7-酮基<sup>[11]</sup> 以及强心甙的内酯环上的  $\alpha$ 、 $\beta$  不饱和酮基<sup>[14]</sup> 还原; 产生的极谱波多可用于含量测定。  $\Delta^{16}$ -娠烯-3 $\beta$ -乙酰氧基-11:20-二酮 (以下简称  $\Delta^{16}$  化合物) 的极谱法测定, 文献上尚未见到。



$\Delta^{16}$ -娠烯-3 $\beta$ -乙酰氧基-11:20-二酮

由于邻近 20-酮基的第 16、17 位上有双键存在, 推测其具有在滴汞电极上还原的性质, 因此对其极谱测定条件进行了试验。参照前人所使用的各种基底液, 找到了产生良好波形的适宜基底液, 并对其可用的范围进行试验, 拟出了极谱测定的步骤, 为测定此化合物提供了一个简捷的方法。

## 实 验 部 分

### (一) 试剂及仪器

**试剂:** 异丙醇, 沸点 82.3°C。

氯化铵, G. R.

**仪器:** 本实验所用极谱仪为 Dr. A. Kuntze (Düsseldorf) 型笔录式极谱仪, 极化池为 Heyrovský 型, 参考电极为饱和甘汞电极, 以盐桥与极化池相通。极化池浸于恒温槽中, 恒温槽温度保持在  $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 。

样品溶液在记录极谱图前, 均通氮气十分钟, 氮气先通过亚钒与亚铬的洗气瓶。文中报告的扩散电流值均已残余电流校正, 电位系对饱和甘汞电极而言。

### (二) 试验方法及结果

**适宜基底液的寻找:** 参照前人测定甾体化合物的条件<sup>[1,3,8]</sup>, 首先应用 0.1N 氯化锂的

异丙醇溶液及 0.1N 氯化鉀的 50% 乙醇或异丙醇溶液为基底液, 使  $\Delta^{16}$ -3-酮基化合物还原, 但所得到的极譜波波形均不够理想, 不适于作定量之用。Adkins 等<sup>[1]</sup>曾指出用含 0.1 N 氯化鉀的 50% 乙醇水溶液或异丙醇水溶液作基底液可以得到胆甾烯酮的还原波, 并认为用异丙醇作溶剂较乙醇更为满意。因此, 作者亦试用了 0.1N 氯化鉀 30%, 40%, 50%, 60%, 70% 的异丙醇水溶液为基底液, 观察  $\Delta^{16}$  化合物的极譜还原性质。发现此化合物在这些介质中均在一 1.15 伏到 -1.65 伏之間产生双波, 而以在含 0.1N 氯化鉀的 40% 或 50% 的异丙醇水溶液中的波形较好。此二波相连接, 第一个波未发展完全, 只显示輕微的曲折即出現第二波, 但波頂平直, 适于作扩散电流的測量。此第二波的半波电位約在一 1.4 伏。起波电位有輕微地随还原物浓度减少而向更負电位移动的趋向。考虑到异丙醇价格較昂, 所以又用含 0.1N 氯化鉀的 30% 到 90% 乙醇水溶液为介质, 观察所产生之波形。結果在电位 -1.15 到 -1.6 伏之間所产生的波形不佳, 第二波波頂斜伸, 斜伸的程度随乙醇比例增大而增加。以含 0.1N 氯化鉀的 50%, 85% 甲醇和 50% 正丙醇水溶液作基底液, 所得的波形与在乙醇中的几乎相仿, 都不适于測定。所以最后仍肯定用异丙醇为溶剂。

**样品溶液浓度与扩散电流的关系:** 在肯定了基底液的成分之后, 即进而观察浓度与波高的关系。在电位 -1.50 伏处測量, 以不同浓度样品溶液的扩散电流与浓度作图, 浓度

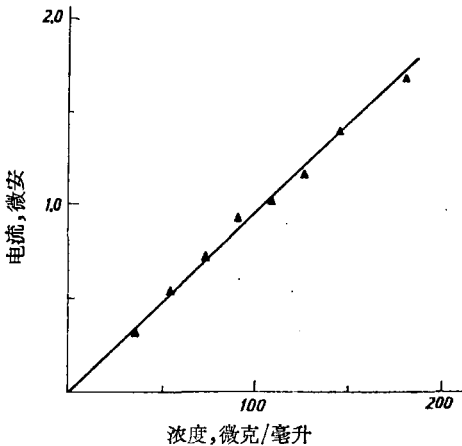


图 1 扩散电流与浓度的关系

在 36 微克/毫升到 180 微克/毫升之間与扩散电流成直綫关系 (图 1)。浓度高于 180 微克/毫升产生負的偏差, 低于 36 微克/毫升波形扭曲, 波高难作准确測量。最初所用空白产生的残余电流頗大, 发现系由氯化鉀中的杂质所引起, 氯化鉀經用蒸餾水重結晶一次后, 残余电流显著降低。

**汞滴重量  $m$ 、汞滴滴落時間間隔  $t$  的測定及扩散电流常数  $I$ 、扩散系数  $D$  的計算:** 按文献<sup>[15]</sup>方法測得所用毛細管的  $m$  值为 3.79 毫克/秒,  $t$  为 1.17 秒/滴 (均系七次实验的平均值); 并由此值代入 Ilkovič 公式計算得扩散电流常

数  $I$  为 1.30。假設  $\Delta^{16}$  化合物的还原为含两个电子的反应, 計算得扩散系数  $D$  为  $1.15 \times 10^{-6}$  厘米<sup>2</sup>/秒。

### 定量測定步驟:

(1) 标准曲綫的繪制: 在半微量分析天平上准确称取 25 毫克左右純化合物置于 25 毫升容量瓶中, 以异丙醇溶解, 并稀释至刻度。以刻度移液管分別吸取此溶液 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40, 1.60 及 2.00 毫升置于极化池中。加异丙醇使其总量为 4.0 毫升, 再加入 1.0 毫升蒸餾水, 5.0 毫升 0.2N 氯化鉀水溶液, 通氮气十分鐘后繪制极譜图。以在 -1.50 伏处測量的扩散电流与浓度作成标准曲綫图。

(2) 样品含量測定: 精确称取一定量样品, 制成异丙醇溶液。然后取一定量, 按与上項相同的步驟測量样品的扩散电流, 再由标准曲綫求出浓度, 計算样品中被測定化合物的含量。

**样品分析：**曾用本法分析一个样品，結果含量为 83.5%，与分光光度測定法<sup>[16]</sup>(含量 84.1%) 尚相符合。

## 討 論

甾体化合物 20 位上游离的酮基，其半波电位頗高(一般在 -1.6 到 -2.0 伏左右)，但  $\Delta^{16}$ -20-酮基甾体化合物的半波电位則稍低(約在 -1.4 伏)，再次証明甾体化合物分子上有  $\alpha$ 、 $\beta$  不飽和鍵的酮基的易还原性。由試驗結果看来，可以認為凡具有  $\alpha$ 、 $\beta$  不飽和鍵的酮基甾体化合物，在适宜条件下，均可用极譜法測定。所試驗化合物的波形与一般羰基还原的波形相同，可以看出由两个阶段組成，每一个阶段相当于一个电子的还原。

根据实验結果，用作溶剂的醇类以异丙醇为最好，其他醇类如甲醇、乙醇、正丙醇等均不够理想。此种現象与 Adkins 和 Cox 的报导<sup>[1]</sup>相同，他們認為这是因为醇类被空气氧化时，异丙醇生成丙酮，其他醇类則生成醛类，而后者干扰較大所致。

## 总 結

对  $\Delta^{16}$ -娠烯-3 $\beta$ -乙酰氧基-11:20-二酮的极譜測定条件进行了試驗，拟定了此化合物的測定方法，并計算出扩散电流常数  $I$  与扩散系数  $D$  的值。

## 参 考 文 献

- [1] Adkins, H., Cox, F. W., Relative Oxidation-reduction Reactivities of Ketones and Aldehydes and Applications in Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, **60**, 1151.
- [2] Eisenbrand, J., Picher, H., Polarographic Estimation of Biologically Important Ketones of the Sterol Group. *Z. Physiol. Chem.*, 1939, **260**, 83.
- [3] Wolfe, J. K., Hershberg, E. B., Fieser, L. F., The Polarographic Determination of Ketonic Steroids. *J. Biol. Chem.*, 1940, **136**, 653.
- [4] Adkins, H., Elofson, R. M., Rossow, A. C., Robinson, C. C., The Oxidation Potentials of Aldehydes and Ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 3622.
- [5] Prelog, V., Häfliger, O., Über das polarographische Verhalten der Cyclanon-betaanyl-hydrazone und die polarographische Bestimmung von Cyclanonon, *Helv. Chim. Acta*, 1949, **32**, 2088.
- [6] Zuman, P., Tenygl, J., Brezina, M., Polarography of Steroids. I. Directly Reducible Steroids;  $\Delta^4$ -cholestenone, Methyltestosterone, Progesterone, and Deoxycorticosterone. *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 1954, **19**, 46.
- [7] Brezina, M., Use of Polarographic Methods in Clinical Chemistry. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, 1959, **18**, 69.
- [8] Kabasakalian, P., McGlotten, J., The Polarographic Reduction of Prednisone, Prednisolone and Their Precursors. *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, **78**, 5032.
- [9] Kabasakalian, P., DeLorenzo, S., McGlotten, J., Polarographic Analyses of Mixtures of Prednisone and Cortisone. *Anal. Chem.*, 1956, **28**, 1669.
- [10] Deys, H. P., van Pinxteren, J. A. C., Polarographic Determination of Prednisone in Tablets. *Pharm. Weekbl.*, 1958, **93**, 760.
- [11] Robertson, D. M., The Use of Polarography in the Examination of Ketosteroids Related to Cholesterol. *Biochem. J.*, 1955, **61**, 681.
- [12] Butt, W. R., Morris, C. J. O. R., Williams, D. C., The Polarographic Estimation of Steroid Hormones. 5. Determination of Progesterone in Blood. *Biochem. J.*, 1951, **49**, 434.
- [13] Morris, C. J. O. R., Williams, D. C., The Polarographic Estimation of Steroid Hormones. 6. Determination of Individual Adrenocortical Hormones in Human Peripheral Blood. *ibid.*, 1953, **54**, 470.
- [14] Hershberg, E. B., Wolfe, J. K., Fieser, L. F., Polarographic Determination of Certain Natural Products. *J. Am. Chem. Soc.*, 1940, **62**, 3516.

- [15] 高鴻, 仪器分析, 1956年, 第202頁, 高等教育出版社.  
[16] 徐礼榮、周同惠,  $\Delta^{16}$ -娠烯-3 $\beta$ -乙酰氧基-11:20-二酮的分光測定, 本所資料, 1960.

## POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF $\Delta^{16}$ -PREGNENE- 3 $\beta$ -ACETOXY-11:20-DIONE

ZENG JI-YAN AND ZHOU TONG-HUI (D. T.-W. CHOW)

(Laboratory of Analytical Chemistry, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking)

### ABSTRACT

A simple and rapid method for the determination of  $\Delta^{16}$  — pregnene — 3 $\beta$  — acetoxy — 11:20 — dione has been worked out. In an aqueous 40% iso-propanol solution of 0.1 N  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , this steroid gave a double polarographic wave which could be used for its determination. The current was measured at  $-1.50$  v. vs. S.C.E. and was proportional to the concentration in the range of 36 to 180  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

From the experimental results, the diffusion current constant  $I$  and the diffusion coefficient  $D$  have been calculated to be 1.30 and  $1.15 \times 10^{-6}$   $\text{cm}^2/\text{sec}$ . respectively.

This method has been applied to the analysis of a sample; the result agreed with that obtained by the spectrophotometric method.