

Gottfried Juppe*, Walter Hafferl** und Karl Heinrich Bloss**

Abbau von [1-¹⁴C]-*p*-Terphenyl und [4-¹⁴C]-*p*-Terphenyl zum Nachweis der spezifischen Markierung

Aus dem Gemeinsamen Forschungszentrum der Europäischen Atomgemeinschaft, CCR Ispra, Italien*, und dem Battelle Institut, Frankfurt/Main, Deutschland**

(Eingegangen am 8. Dezember 1967)

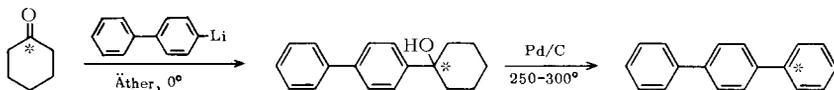
Am Beispiel des in 1- und des in 4-Stellung mit ¹⁴C markierten *p*-Terphenyls wurden Abbaureaktionen zum Beweis der spezifischen Markierung studiert. [1-¹⁴C]-*p*-Terphenyl wurde mit Chromoxid zu 4-[[1-¹⁴C]Phenyl]-benzoesäure verbrannt. [4-¹⁴C]-*p*-Terphenyl wurde zum [4-¹⁴C]-4,4''-Dinitro-*p*-terphenyl nitriert, anschließend zu [4-¹⁴C]-4-Nitro-benzoesäure oxydiert, die daraus gewonnene [4-¹⁴C]-4-Amino-benzoesäure diazotiert, mit Hypophosphit desaminiert und die [4-¹⁴C]Benzoesäure über das Azid nach Curtius abgebaut. Aus dem [4-¹⁴C]Anilin wurde nach Skraup [6-¹⁴C]Chinolin hergestellt und mit wäßrigem Permanganat zu inaktiver Pyridindicarbonsäure und [¹⁴C]Oxalsäure verbrannt.

In zwei vorausgegangenen Veröffentlichungen wurde über die Synthese von ¹⁴C-markierten *o*- und *p*-Terphenylen berichtet^{1,2)}. Zum Nachweis der spezifischen Markierung wurden nun an den Beispielen des [1-¹⁴C]-*p*-Terphenyls und des [4-¹⁴C]-*p*-Terphenyls Abbaureaktionen studiert, die Auskunft über Fehlmarkierungen im Kohlenstoffgerüst geben können.

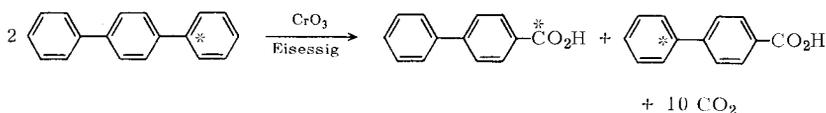
Ergebnisse und Diskussion

[1-¹⁴C]-*p*-Terphenyl

[1-¹⁴C]-*p*-Terphenyl wurde aus [1-¹⁴C]Cyclohexanon und Biphenyl-lithium über das 1-Biphenyl-cyclohexanol erhalten¹⁾. Die Wasserabspaltung und Dehydrierung des Alkohols gelang erst bei 250--300° über Palladium/Kohle als Katalysator.



Die direkte Oxydation von *p*-Terphenyl mit Chromtrioxid in Eisessig führte in 33proz. Ausbeute zur *p*-Phenyl-benzoesäure.



¹⁾ W. Hafferl, E. Fischer und G. Juppe, J. Labelled Compounds 1, 169 (1965).

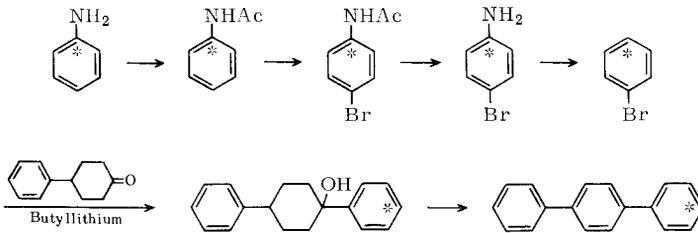
²⁾ W. Hafferl und G. Juppe, J. Labelled Compounds, im Druck.

Das hierbei frei werdende Kohlendioxid enthielt 0.06% der Aktivität des eingesetzten $[1-^{14}\text{C}]-p$ -Terphenyls. Dieses Ergebnis zeigt, daß höchstens mit ca. 0.12% ^{14}C -Atomen in den Stellungen 2, 3, 4, 5 und 6 (bzw. 2', 3', 4', 5' und 6') des aromatischen Gerüsts zu rechnen ist. Aus Symmetriegründen wird auch der zweite inaktive Außenring der gleichen Abbaureaktion unterworfen.

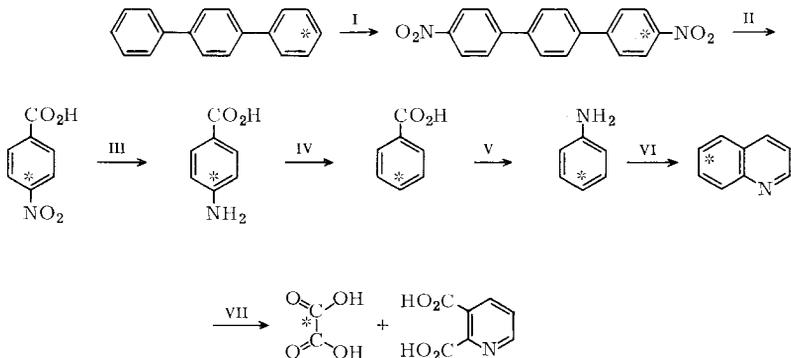
Die Ergebnisse des Abbaus beweisen, daß a) die Markierungsstelle im Ausgangsmaterial der Synthese ($[1-^{14}\text{C}]\text{Cyclohexanon}$) im wesentlichen einheitlich war, b) die Verknüpfung von Biphenyl-lithium mit Cyclohexanon nur in 1-Stellung erfolgte, c) während der katalytischen Dehydrierung zu p -Terphenyl (250–300°, Pd) kein wesentlicher Platzwechsel der Markierungsposition auftrat.

$[4-^{14}\text{C}]-p$ -Terphenyl

$[4-^{14}\text{C}]-p$ -Terphenyl wurde auf folgendem Weg dargestellt ²⁾:



Zum Abbau des p -Terphenyls wurde zum $[4-^{14}\text{C}]-4,4''$ -Dinitro- p -terphenyl nitriert, mit Chromtrioxid in Eisessig zu $[4-^{14}\text{C}]-4$ -Nitro-benzoesäure oxydiert, die daraus katalytisch gewonnene $[4-^{14}\text{C}]-4$ -Amino-benzoesäure diazotiert, mit Hypophosphit desaminiert und die $[4-^{14}\text{C}]\text{Benzoesäure}$ über das Azid nach *Curtius* abgebaut. Aus dem $[4-^{14}\text{C}]\text{Anilin}$ wurde nach *Skraup* $[6-^{14}\text{C}]\text{Chinolin}$ hergestellt und mit wäßrigem Permanganat zu Pyridin-dicarbonsäure-(2,3) und $[^{14}\text{C}]\text{Oxalsäure}$ oxydiert.



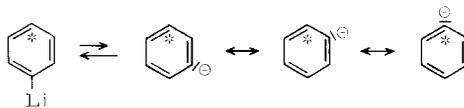
Die Ergebnisse dieser Abbaureaktionen sind in der Tabelle aufgeführt. Die Gesamtausbeute über die sieben Reaktionsschritte betrug 1.0%.

Bilanz der Abbaureaktionen von [4-¹⁴C]-*p*-Terphenyl. Die eingeklammerten Werte wurden indirekt ermittelt

Reaktion	Molaktivität Ausgangsmaterial (nC/mMol)	Verdünnung (mg) : (mg)	Molaktivität Reaktionsprodukt (nC/mMol)	Chemische Ausb.
I	9600	240.9 : 4119.1	(560)	1.45 g (27%)
II	560	keine	560	790 mg (54%)
III	560	keine	(560)	180 mg (91%)
IV	560	(180.0 : 315.0)	320	50.9 mg (18%)
V	320	50.9 : 635.2	25.6	186.5 mg (80%)
VI	15.6	keine	(15.6)	244 mg (98%)
VII	15.6	keine	0.12	154 mg (54%)

Der Anteil an fehlmarkiertem *p*-Terphenyl betrug demnach weniger als 0.8%. Selbst bei einem Einbau von inaktivem Anilin während der *Skraup*-Synthese, verursacht durch die Reduktion des Lösungsmittels Nitrobenzol zu Anilin durch das als Zwischenprodukt auftretende Dihydrochinolin, würde die Fehlmarkierung höchstens 1.2% betragen³⁾.

Die Ergebnisse dieses Abbaues zeigen, wie im Falle des [1-¹⁴C]-*p*-Terphenyls, die radiochemische Reinheit des Ausgangsmaterials [4-¹⁴C]Brombenzol und die Eindeutigkeit der Ringverknüpfung und der Aromatisierung. Darüber hinaus wurde bewiesen, daß unter den Synthesebedingungen keine wesentliche Verteilung der Aktivität durch Ionisation des Phenyllithiums und Rekombination an anderen Kernstellen auftrat⁵⁾:



Wir danken Herrn *M. Schmidl* und Fräulein *A. Schildgen* für die geschickte und gewissenhafte Ausführung der experimentellen Arbeiten.

- ³⁾ Wie jedoch neuere Versuche von *Wahren*⁴⁾ zeigten, wird bei der *Skraup*-Synthese von Anilin in [¹⁵N]Nitrobenzol Chinolin gebildet, in dem weniger als 2% des Stickstoffs dem Nitrobenzol entstammen.
- ⁴⁾ *M. Wahren*, Tetrahedron [London] **20**, 2773 (1964).
- ⁵⁾ Die Ergebnisse stehen in Einklang mit der Tatsache, daß *Grignard*-Reaktionen substituierter Aromaten zu keinem Isomerenmisch führen.

Beschreibung der Versuche

1. Oxydativer Abbau von [1-¹⁴C]-*p*-Terphenyl

50 mg [1-¹⁴C]-*p*-Terphenyl¹⁾, enthaltend 3.06 μC (14 $\mu\text{C}/\text{mMol}$) Aktivität, wurden in 10 ccm siedendem Eisessig⁶⁾ mit 300 mg CrO_3 behandelt, das aus einem Soxhlet-Extraktor langsam mit dem rückfließenden Eisessig zutropfte. Gleichzeitig durchströmte die Apparatur ein schwacher Stickstoffstrom, der nach Trocknen bei -20° ein mit Glasperlen gefülltes verschließbares Absorptionsröhrchen und dahinter ein Kalilauge-Rohr durchlief. In dem mit Glasperlen gefüllten Röhrchen befanden sich zur CO_2 -Absorption 0.5 ccm Äthanolamin.

Nachdem alles Chromtrioxid zugetropft war, wurde $\frac{1}{4}$ Stde. lang weiter zum Sieden erhitzt und dann das CO_2 ⁷⁾ enthaltende Äthanolamin mit 15 ccm Szintillationslösung (0.5% PPO und 50 ppm POPOP in Toluol) in ein Zählgläschen gespült. Es enthielt 0.002 μC , entsprechend ca. 0.06% Aktivität in anderen Stellungen als 1 (bez. auf eingesetztes *p*-Terphenyl).

Die oxydierte Lösung wurde i. Vak. eingedampft, mit Wasser aufgenommen und mit Benzol extrahiert. Die Benzollösung wurde mit 2 ccm 0.1 *n* NaOH gegen Phenolphthalein neutralisiert und wieder mit Wasser extrahiert.

In der Benzolphase war ein Produkt enthalten, das durch Sublimation (100°, 18 Torr) in einen aktiven Rückstand und ein inaktives kristallines Sublimationsprodukt getrennt werden konnte. Beide Substanzen wurden nicht näher untersucht, da sie schwer zu reinigende Gemische darstellten.

Aus der wäßr. Phase konnten durch Ansäuern mit Salzsäure 14 mg (0.92 μC) *p*-Phenylbenzoesäure (Roh-Schmp. 190–200°, spezif. Aktivität 12 $\mu\text{C}/\text{mMol}$) isoliert werden.

2. Abbau von [4-¹⁴C]-*p*-Terphenyl

2.1. *Nitrierung*: 240.9 mg [4-¹⁴C]-*p*-Terphenyl (Aktivität 9600 nC/mMol) wurden zusammen mit 3878.2 mg *inaktivem p*-Terphenyl in ca. 120 ccm heißem Benzol gelöst und i. Vak. zur Trockne gebracht (das verdünnte Terphenyl enthielt 560 nC/mMol). Davon wurden 4150 mg in 250 ccm Eisessig mit 24 ccm *Salpetersäure* (*d* 1.52) 15 Min. auf 105° gehalten. Nach Kühlen und mehrmaligem Kristallisieren des Rohproduktes aus Nitromethan/Benzol (2:1) wurden 1.35 g (25%) [4-¹⁴C]-4,4'-*Dinitro-terphenyl* erhalten (Schmp. 274.5–276°, Aktivität 560 nC/mMol). Weitere 0.1 g wurden aus den Mutterlaugen gewonnen.

2.2. *Oxydation*: 1.4 g [4-¹⁴C]-4,4'-*Dinitro-p-terphenyl* wurden in zwei Teilen in insgesamt 150 ccm siedendem Eisessig portionsweise mit 7.5 g *Chromtrioxid* versetzt und $\frac{3}{4}$ Std. gekocht. Nach Abkühlen auf etwa 70° wurde tropfenweise Ameisensäure zugesetzt, das Gemisch i. Vak. zur Trockne eingedampft, in etwas Wasser aufgenommen und ausgeäthert. Die Ätherlösung wurde mit verd. Natronlauge extrahiert und die [4-¹⁴C]-4-Nitrobenzoesäure mit Salzsäure gefällt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol blieben 0.79 g (54%) gaschromatographisch reine [4-¹⁴C]-4-Nitrobenzoesäure zurück. Spezif. Aktivität 560 nC/mMol.

Retentionszeiten auf einer 1-m-Castormax-Säule bei 160° (He 20 ccm/Min.) der mit Diazomethan erhaltenen Methylester: 2-Nitrobenzoesäure 7.4 Min., 4-Nitrobenzoesäure 8.4 Min. und 3-Nitrobenzoesäure 9.5 Min. Ein analoges Gaschromatogramm der gereinigten, aktiven 4-Nitrobenzoesäure zeigte nur einen Peak. Die Nachweisgrenze für das 2-Isomere betrug ca. 0.02%, für das 3-Isomere ca. 0.06%.

6) Über CrO_3 destilliert.

7) Versuche einer gleichzeitigen Wägung des gebildeten CO_2 scheiterten. Anscheinend gab Eisessig in wechselnder Menge CO_2 ab.

2.3. *Reduktion von [4-¹⁴C]-4-Nitro-benzoesäure*: 0.24 g [4-¹⁴C]-4-Nitro-benzoesäure wurden mit 0.2 g Pd/C in 0.7 ccm Cyclohexen und 10 ccm Äthanol 18 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand mit Äther ausgekocht. Nach dem Einengen blieben 0.18 g (91 %) rohe Aminosäure (Schmp. 174—178°) zurück. Spezif. Aktivität 560 nC/mMol. Sie wurde mit 135 mg inaktiver Säure verdünnt.

2.4. *Desaminierung*: 315 mg 4-Amino-benzoesäure in 20 ccm Wasser wurden unter Zusatz von 0.4 ccm konz. Salzsäure mit 95 mg Natriumnitrit in 2 ccm Wasser bei 0—5° unter Rühren diazotiert. Die gekühlte Lösung wurde in 15 ccm gekühlte 30proz. unterphosphorige Säure gegossen, 2 Tage lang im Eisschrank belassen und dann abfiltriert. Das Filtrat wurde ausgeäthert, die Ätherauszüge wurden eingengt und vereinigt. Die Benzoessäure wurde i. Vak. sublimiert. Aus 109 mg (39 %) rohem Sublimat (Schmp. 114—119°) wurden nach Dünnschichtchromatographie und Umkristallisieren 50.9 mg reine Benzoessäure der spezif. Aktivität 320 nC/mMol (Schmp. 120°) gewonnen, die auf 635.2 mg verdünnt wurden.

2.5. *Curtius-Abbau*: Zu 304.2 mg [4-¹⁴C]Benzoessäure (berechnete spezif. Aktivität 25.6 nC/mMol) in 2 ccm CHCl₃ über 1 ccm 100proz. Schwefelsäure wurden bei 40° im Laufe einer Stde. 250 mg NaN₃ gegeben. Bis zum Ende der Gasentwicklung (3 Stdn.) wurde weitergerührt, das Gemisch mit Eiswasser verdünnt und alkalisch ausgeäthert. Aus dem getrockneten Äther wurde das Anilinhydrochlorid mit ätherischer Salzsäure gefällt und daraus die Base zurückgewonnen (Ausb. 186.5 mg, 80.4 %, spezif. Aktivität 25.6 nC/mMol).

Der Versuch wurde mit dem Rest der Benzoessäure wiederholt, das aktive Anilin jedoch mittels etwas inaktivem Anilin aus der Apparatur quantitativ ausgetrieben. Die spezif. Aktivität des Gemisches betrug 15.6 nC/mMol.

2.6. *Skraup-Synthese*: In der angegebenen Reihenfolge wurden gemischt: 18 mg FeSO₄, 18 mg FeSO₄·7H₂O, 785 mg frisch dest. Glycerin, 178.5 mg [4-¹⁴C]Anilin (spezif. Aktivität 15.6 nC/mMol), 160 mg Nitrobenzol und 0.33 ccm konz. Schwefelsäure. Die Mischung wurde 6 Stdn. auf 135—140° gehalten, abgekühlt, verdünnt und alkalisch mit Dampf ausgeblasen. Das Chinolin wurde dem Destillat mit Äther entzogen, nach Trocknen mit ätherischer Salzsäure gefällt und als Base destilliert (Ausb. 244.1 g [6-¹⁴C]Chinolin, 98.5 %). Der zweite Ansatz verlief ebenso. Die Aktivität ließ sich wegen der starken Löschung (Quenching) nicht zählen.

2.7. *Oxydierende Spaltung*: Nach 24stdg. Rühren von 244.1 mg [6-¹⁴C]Chinolin mit 1.8 g KMnO₄ in 45 ccm Wasser bei Raumtemperatur wurde das überschüss. Permanganat mit Formaldehyd reduziert. Aus dem Filtrat vom MnO₂·aq wurde bei pH 7.5 mit Ca(NO₃)₂ das aktive Oxalat niedergeschlagen (169 mg CaC₂O₄·H₂O, 61.2 %) und die Chinolinsäure nach Einengen des Filtrates auf 10 ccm bei pH 7—8 mit 500 mg CuSO₄·5H₂O gefällt. Die Ausb. betrug 232.2 mg (53.8 %, berechnet für C₅H₃N(CO₂)₂Cu), die spezif. Aktivität 0.12 nC/mMol.