

Synthese und Anwendung von ^{14}C -markiertem Pyrokohlensäurediäthylester

E. FISCHER und R. SCHELENZ *

Institut für Strahlentechnologie der Bundesforschungsanstalt
für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe

Erhalten den 2. Juni 1969

SUMMARY

The synthesis of two pyrocarbonicacid diethylesters, differently labelled with ^{14}C , is described. The easily prepared pyrocarbonicacid diethylester is an excellent means for the synthesis of labelled esters and carbethoxycompounds, even those that are difficult to prepare by other routes. While pyrocarbonicacid diethylester-(carbonyl- ^{14}C) is useful only for the synthesis of ^{14}C -labelled N-, S-, and O-carbethoxycompounds, pyrocarbonicacid diethylester-(ethyl- ^{14}C) yields both ^{14}C -labelled ethyl esters and ^{14}C -labelled carbethoxycompounds.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Synthese von zwei mit ^{14}C unterschiedlich markierten Pyrokohlensäurediäthylestern wird beschrieben. Der einfach darzustellende Pyrokohlensäurediäthylester ist ein ausgezeichnetes Mittel zur Synthese auch von sonst schwierig zugänglichen markierten Estern und Carbäthoxyverbindungen. Während Pyrokohlensäurediäthylester-(Carbonyl- ^{14}C) nur zur Synthese ^{14}C -markierter N-, S-, und O-Carbäthoxyverbindungen brauchbar ist, liefert Pyrokohlensäurediäthylester-(Äthyl- ^{14}C) sowohl ^{14}C -markierte Äthylester als auch ^{14}C -markierte Carbäthoxyverbindungen.

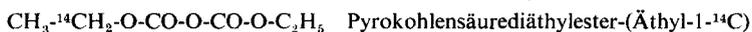
1. — EINLEITUNG

Pyrokohlensäurediäthylester, oder Diäthylcarbonat, eine in steigendem Umfang zur Entkeimung von sauren Getränken verwendete Substanz, besitzt

* Teil der Diplomarbeit von R. Schelenz, Universität Karlsruhe, 1969.

außergewöhnliche Eigenschaften als Veresterungs- und Carbäthoxylierungsmittel. Die hervorragende Reaktionsfähigkeit des Pyrokohlensäurediäthylesters ermöglicht seine Anwendung auch in wäßrigem Medium und in solchen Fällen, in denen unter Ausschluß von Katalysatoren und höheren Temperaturen, d.h. unter schonenden Reaktionsbedingungen, gearbeitet werden muß. Unter Abspaltung von Äthylalkohol und Kohlendioxyd bildet Pyrokohlensäurediäthylester mit meistens hoher Ausbeute mit Carbonsäuren Äthylester und er carbäthoxyliert Hydroxyl-, Sulfhydryl-, sowie primäre und sekundäre Aminogruppen. Pyrokohlensäurediäthylester wirkt nicht alkylierend. Da der Pyrokohlensäurediäthylester leicht darzustellen ist, bietet er die Möglichkeit einer radioaktiven Markierung von Carbonsäureäthylestern und von Carbäthoxyverbindungen und es ist erstaunlich, daß er hierfür relativ selten verwendet wird.

Der Einbau von Radiokohlenstoff kann an zwei verschiedenen Positionen im Molekül des Pyrokohlensäurediäthylesters erfolgen :

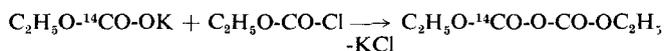


Beide markierten Verbindungen wurden in Anlehnung an Beschreibungen der Synthese der unmarkierten Verbindung dargestellt, die von verschiedenen Autoren veröffentlicht wurden (1, 2, 3, 4). Aus der Symmetrie des Moleküls und aus der Anordnung des Radiokohlenstoffs ergibt sich, daß nur der an der Äthylgruppe markierte Pyrokohlensäurediäthylester auch ^{14}C -markierte Äthylester liefert, und daß die Reaktionsprodukte mit ^{14}C -Pyrokohlensäurediäthylester (Carbonsäureäthylester und Carbäthoxyverbindungen) nur die Hälfte der ursprünglichen spezifischen Aktivität des ^{14}C -Pyrokohlensäurediäthylesters besitzen.

2. — BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

PYROKOHLENSÄUREDIÄTHYLESTER-(CARBONYL- ^{14}C).

Die Darstellung nach folgendem Reaktionsschema ist besonders vorteilhaft, da von $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ ausgegangen werden kann :



In einem 250 ml — Dreihalsrundkolben, versehen mit Rückflußkühler, Tropftrichter und Thermometer, wurden unter Feuchtigkeitsausschluß zu 40 ml absolutem Diäthyläther 2 g (0,05 Mol) Kaliumschmelze zugegeben. Unter magnetischem Rühren wurden 2,36 g (0,05 Mol) absoluter Äthylalkohol,

in 10 ml absolutem Äther gelöst, tropfenweise rasch zugefügt. Der Tropftrichter wurde mit 5 ml absolutem Äther nachgespült und die Reaktionsmischung bis zum Verschwinden des Kaliums unter kräftigem Rühren am Rückfluß erhitzt (ca. 6 h).

Der Tropftrichter wurde gegen ein in die Reaktionsmischung eintauchendes Gaseinleitungsrohr ausgetauscht, das über eine CO_2 -Entwicklungsapparatur und über eine Waschflasche mit konz. H_2SO_4 mit einer Stickstoffdruckgasflasche verbunden war. Um ein Entweichen von $^{14}\text{CO}_2$ aus der Apparatur zu vermeiden, wurde an den Kühler eine Absorptionsfalle — beschickt mit konz. wäßriger Kalilauge — angeschlossen.

In der CO_2 -Entwicklungsapparatur befanden sich etwa 400 mg $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$, aus dem $^{14}\text{CO}_2$ durch Zutropfen von Phosphorsäure unter strömendem Stickstoff freigesetzt und mit dem Kaliumäthylat zur Reaktion gebracht wurde. Nachdem die Entwicklung von $^{14}\text{CO}_2$ beendet war, wurde noch etwa 1/4 h lang Stickstoff durchgeleitet. Die Stickstoffgasdruckflasche wurde durch eine Kohlendioxidgasdruckflasche ersetzt und inaktives CO_2 zum vollständigen Umsatz des Kaliumäthylats in die Reaktionsmischung eingeleitet. In der siedenden Lösung bildete sich ein dichter, weißer Niederschlag von Kaliumäthylcarbonat. Das Ende der Reaktion wird durch das Absinken der Temperatur in der Reaktionsmischung erkannt.

Das Gaseinleitungsrohr wurde wieder durch einen Tropftrichter ersetzt, 5,55 g (0,05 Mol) Chlorameisensäureäthylester, gelöst in 5 ml absolutem Äther, in etwa 1/2 h zugetropft und die Reaktionsmischung 12 h am Rückfluß erhitzt. Das entstandene KCl wurde abzentrifugiert, fünfmal mit je 20 ml absolutem Äther gewaschen und jeweils abzentrifugiert. Die vereinigten klaren Zentrifugate wurden unter vermindertem Druck vom Äther befreit und der Rückstand mehrfach im Ölpumpenvakuum destilliert.

Die chemische Ausbeute an Pyrokohlensäurediäthylester-(Carbonyl- ^{14}C) betrug 4,482 g ($K_{\text{p}1 \text{ mm}} 48^\circ\text{C}$ oder $K_{\text{p}4 \text{ mm}} 66^\circ\text{C}$), das sind 54% der Theorie, bezogen auf Kalium.

Es wurden etwa 5 mCi $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ eingesetzt. Die radiochemische Ausbeute von 2,7 mCi entsprach der chemischen Ausbeute. Die spezifische Aktivität von 0,6025 mCi/g, oder 0,0976 mCi/mMol wurde mit einem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer (Beckman CPM 200) unter Anwendung eines inneren Standards (n-Hexadekan-1- ^{14}C) ermittelt.

Die Reinheit des Pyrokohlensäurediäthylesters-(Carbonyl- ^{14}C) wurde durch Hydrolyse in Wasser bei den pH-Werten 1 und 3,6 und verschiedenen Konzentrationen geprüft. Sowohl bei der Darstellung des Pyrokohlensäurediäthylesters als auch bei der Hydrolyse entstehen in Nebenreaktionen geringe Mengen Diäthylcarbonat. Der nach der Hydrolyse durch Messung des konstant gebliebenen Aktivitätsrückstandes ermittelte Gehalt an ^{14}C -Diäthylcarbonat betrug im Mittel $0,037 \pm 0,008\%$.

PYROKOHLENSÄUREDIÄTHYLESTER-(ÄTHYL-1-¹⁴C).

Die Darstellung folgt dem bei der Synthese des Pyrokohlensäurediäthylester-(Carbonyl-¹⁴C) angegebenen Reaktionsschema, jedoch wurde Äthylalkohol-1-¹⁴C (CH₃-¹⁴CH₂OH) als Markierungskomponente eingesetzt.

In einen 50 ml — Zweihalsrundkolben mit auf dem Seitenhals aufgesetzten Rückflußkühler wurden 20 ml absoluter Diäthyläther und 1,025 g (26,2 mMol) Kaliumschnitzel vorgegeben. Auf den Mittelhals wurde ein in die Reaktionsmischung eintauchendes Gaseinleitungsrohr aufgesetzt, dessen oberes Ende einen Tropftrichter mit seitlichem Ansatzrohr für das Einleiten von mit konz. H₂SO₄ getrocknetem Stickstoff enthielt. Auf einen etwas tiefer liegenden seitlichen, etwa waagrechten Ansatz wurde über eine Schliffverbindung die Glasampulle angebracht, die etwa 500 µCi (ca. 4 mg) Äthylalkohol-1-¹⁴C enthielt. Der Tropftrichter wurde mit 1,206 g (26,2 mMol) absolutem Äthylalkohol in 5 ml absolutem Äther gefüllt und die Bildung des Kaliumäthylats mit einigen Tropfen Alkohol aus dem Tropftrichter in Gang gebracht. Unter kräftigem Rühren und Erwärmen der Reaktionsmischung (Magnetheizrührer) und mäßiger Stickstoffströmung wurde mit einem Magneten die Abschmelzstelle der Glasampulle zerschlagen und der Äthylalkohol-1-¹⁴C mit einem auf etwa 60 °C eingestellten und um die Ampulle gewickelten Heizdraht langsam in die Reaktionsmischung getrieben. Die Stickstoffströmung war so eingestellt worden, daß die Reaktionsmischung nicht in das Gaseinleitungsrohr zurücksteigen konnte. Nach beendetem Ausheizen wurde der Äthylalkohol aus dem Tropftrichter zugetropft, mit etwas absolutem Äther nachgespült und die Reaktionsmischung bis zum vollständigen Verschwinden des Kaliums unter kräftigem Rühren am Rückfluß erhitzt (ca. 6 h). Um das Flüssigkeitsniveau im Reaktionskolben zu halten, mußte von Zeit zu Zeit etwas absoluter Äther zugegeben werden.

Anschließend wurde die Stickstoffgasdruckflasche durch eine Kohlendioxydgasdruckflasche ersetzt und trockenes CO₂ ohne äußere Erwärmung mit 2-3 Blasen pro sec in die Reaktionsmischung eingeleitet. Die Lösung erwärmte sich zum Sieden und es fiel Kaliumäthylcarbonat aus. Nach Beendigung der Reaktion wurden 2,844 g (26,2 mMol) Chlorameisensäureäthylester in 5 ml absolutem Äther zugetropft. Die Aufarbeitung erfolgte auf die bereits beschriebene Weise.

Die chemische Ausbeute betrug nach mehrmaliger Rektifikation des Pyrokohlensäurediäthylesters-(Äthyl-1-¹⁴C) 1,381 g, das sind 32,5% der Theorie, bezogen auf Kalium.

Die durch Flüssigkeitsszintillationsmessung ermittelte spezifische Aktivität betrug 97,44 µCi/g, bzw. 15,79 µCi/mMol.

3. — DISKUSSION UND ANWENDUNGEN

Die chemischen Ausbeuten an markiertem Pyrokohlensäurediäthylester sind wesentlich von der Größe des Syntheseansatzes abhängig. Die beschrie-

benen Reaktionsbedingungen müssen eingehalten werden, wenn die angegebenen Ausbeuten erreicht werden sollen. Ein Überschuß an Äthylalkohol ist zu vermeiden, da dieser am Ende der Reaktionsfolge mit bereits gebildetem Pyrokohlensäurediäthylester zu Diäthylcarbonat reagiert. Da der Äthylalkohol bei der Reaktion nicht verbraucht wird, bildet sich Diäthylcarbonat katalytisch nach, solange Äthylalkohol in der Reaktionsmischung vorhanden ist. Reiner Pyrokohlensäurediäthylester ist bei Feuchtigkeitsausschluß lange haltbar.

Die ^{14}C -Äthylester von Carbonsäuren werden mit Pyrokohlensäurediäthylester-(Äthyl- ^{14}C) nach den von Winterfeld und Buschbeck ⁽²⁾ für Picolinsäurediäthylester und von Thoma und Rinke ⁽⁵⁾ für zahlreiche Carbonsäureäthylester angegebenen Methoden dargestellt. Sie brauchen deshalb hier nicht mehr beschrieben zu werden. Allerdings geben nicht alle Carbonsäuren einheitliche Produkte, besonders solche, die mit Pyrokohlensäurediäthylester Carbäthoxyverbindungen bilden können. So wurde beispielsweise bei Untersuchungen mit Äpfelsäure festgestellt, daß bei der Reaktion mit Pyrokohlensäurediäthylester in wäßrigem Medium sieben verschiedene Carbäthoxyverbindungen und Ester der Äpfelsäure in unterschiedlichen Mengenverhältnissen gebildet werden ⁽⁶⁾.

Die Grundlagen für die Darstellung von ^{14}C -Carbäthoxyverbindungen aus Pyrokohlensäurediäthylester-(Äthyl- ^{14}C) oder Pyrokohlensäurediäthylester-(Carbonyl- ^{14}C) sind ebenfalls bereits veröffentlicht worden ^(7, 8, 9). Die in der zitierten Literatur beschriebenen Arbeitsvorschriften haben sich bewährt und können direkt auf Markierungssynthesen übertragen werden. Synthesen von Phenyläthylurethan aus Anilin und von Phenylkohlensäureäthylester aus Phenol durch einfaches Erwärmen mit Pyrokohlensäurediäthylester verliefen quantitativ. Die Triäthylammoniumsalze von Aminosäuren lassen sich mit Pyrokohlensäurediäthylester leicht in die N-Carbäthoxy-aminosäuren umwandeln.

Wir haben Glyoxylsäureäthylester in guter Ausbeute dargestellt, indem wir ein Gemisch von 3,7 g Glyoxylsäure-Monohydrat, 6,6 g Pyrokohlensäurediäthylester und 8 ml Tetrahydrofuran am Rückfluß gekocht haben, bis die CO_2 -Entwicklung beendet war. Nach dem Abziehen des gebildeten Alkohols und des Tetrahydrofurans konnte der schon reine Ester für weitere Untersuchungen direkt eingesetzt werden. Eine Destillation des Esters ergab, daß neben wenig Äthylester und Diäthylacetal vor allem das Äthylhalbacetal entstanden war. Bei einer Weiterverarbeitung muß deshalb beachtet werden, daß bei der Anwendung von Pyrokohlensäurediäthylester-(Äthyl- ^{14}C) im Äthylhalbacetal des Glyoxylsäureäthylesters die Aktivität zu gleichen Teilen in der Estergruppe und der Halbacetalgruppe enthalten ist.

Die Anwendung leicht zugänglicher Pyrokohlensäuredialkylester und Pyrokohlensäurediarylester erweitert ganz erheblich die Möglichkeiten zur Darstellung ^{14}C - oder ^3H -markierter acylierter Verbindungen (Carbamidsäureester, Aryl- und Alkylkohlensäureester) und Carbonsäureester.

LITERATUR

1. FELUMB, R. — *Bull. Soc. Chim. France*, 1957, 890.
2. WINTERFELD, K. und BUSCHBECK, H. — *Arch. Pharm.*, **66** : 468 (1961).
3. ROSNATI, L. — *Chem. Ber.*, **96** : 3098 (1963).
4. HOWE, J. H. und MORRIS, L. R. — *J. Org. Chem.*, **27** : 1901 (1962).
5. THOMA, W. und RINKE, H. — *Liebigs Ann. Chem.*, **624** : 30 (1959).
6. SCHELENZ, R. und FISCHER, E. — Unveröffentlichte Untersuchungen.
7. BOEHM, T. und MEHTA, D. — *Ber. dtsch. chem. Ges.*, **71** : 1797 (1938).
8. PAULUS, W. — *Z. Ernährungswiss.*, **9** : 11 (1968).
9. PAULUS, W. und LORKE, D. — *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.*, **132** : 325 (1967).