

MARKIERUNG VON ETHOXYQUIN MIT KOHLENSTOFF-14

H. Müller

Bundeforschungsanstalt für Ernährung
Zentrallaboratorium für Isotopentechnik
Engesserstraße 20, D-75 Karlsruhe 1

SUMMARY

Ethoxyquin (6-Ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline) was labelled in position 2 and 4 by iodine-catalyzed reaction of (2-¹⁴C)-acetone with p-phenetidine. The radiochemical yield was 39,4%.

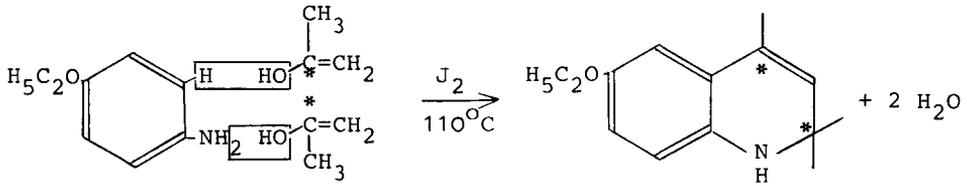
EINLEITUNG

Das Antioxydans Ethoxyquin (6-Äthoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydrochinolin) wird seit langem zur Stabilisierung von Futtermitteln verwendet. Neuerdings kommt seiner Anwendung bei Äpfeln zur Verhinderung der Schalenbräune steigende Bedeutung zu, so daß Untersuchungen zur Mobilität und zum Metabolismus des Wirkstoffes sowohl beim Apfel als auch im Tierversuch notwendig werden. Für diese Untersuchungen soll die ¹⁴C-markierte Verbindung eingesetzt werden, deren Synthese im folgenden beschrieben wird.

ERGEBNISSE

Die Markierungssynthese erfolgte in Anlehnung an die Vorschrift von Knoevenagel (1) durch J₂-katalysierte Kondensationsreaktion von

p-Phenetidin mit Aceton, das als (2-¹⁴C)-Aceton eingesetzt wurde (im folgenden Reaktionsschema in der Enol-Form angegeben):



Nach inaktiven Vorversuchen war die höchste Ausbeute (47,3%, bezogen auf Aceton) beim Einsatz von p-Phenetidin und Aceton im Molverhältnis 2:1 zu erwarten. Das durch Umsetzung von 10 mMol p-Phenetidin mit 5 mMol Aceton gewonnene Ethoxyquin wurde säulenchromatographisch in mehreren Schritten gereinigt. Die einzelnen Reinigungsschritte wurden dünnschichtchromatographisch überwacht. Die erzielte Reinheit betrug > 99,5%. Die Identifizierung erfolgte durch Cochromatographie einer authentischen Probe und Fluoreszenzanalyse sowohl auf der Dünnschichtplatte als auch in Lösung. Das markierte Ethoxyquin wies eine spezifische Aktivität von 0,38 μ Ci/mg auf, was einer radiochemischen Ausbeute von 39,4% entspricht.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die zur Markierung verwandten 250 μ Ci (2-¹⁴C)-Aceton wurden in einer Brechsiegelampulle mit einer spezifischen Aktivität von 26 mCi/mMol vom Radiochemical Centre, Amersham bezogen. Das für die Vergleichsmessungen benutzte Ethoxyquin lieferte die Firma Koch - Light Laboratories LTD, Colnbrook. Für die Radioaktivitätsmessungen in einem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer wurde als Szintillator das bewährte System PPO/POPOP in Toluol verwendet. Die Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel 60-Fertigplatten (Merck) wurden mit einem Radiodünnschichtscanner ausgewertet.

In Tabelle 1 sind die verwandten Fließmittel und die R_F -Werte von Ethoxyquin zusammengestellt.

Fließmittelgemisch	R_F -Wert
a) Chloroform	0,48
b) Chloroform/n-Hexan (9:1)	0,41
c) Chloroform/Aceton (9:1)	0,59

Tab.1: Fließmittel und dazugehörige R_F -Werte von Ethoxyquin

Für die Identifizierung war eine Anfärbung nicht erforderlich, da Ethoxyquin unter der UV-Lampe eine starke Blaufluoreszenz zeigt und bei Tageslichteinwirkung schnell zu einem rotbraunen Produkt zersetzt wird. Quantitativ wurde das Ethoxyquin über die Fluoreszenzmessung bei 412 nm nach Anregung bei 365 nm in n-Hexan bestimmt.

Bei der Synthese des (2,4- ^{14}C)-6-Äthoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydrochinolin wurden in einer für den Brechsigelampullen-Anschluß geeigneten Apparatur - bestehend aus Zweihalskolben, Rückflußkühler und Einleitungsrohr - 290 mg (5 mMol) Aceton, 1,37 g (10 mMol) p-Phenetidin und 17,5 mg Jod vorgelegt. Das ^{14}C -Aceton wurde durch Erwärmen der geöffneten Ampulle in die gekühlte Vorlage übergetrieben. Zusätzliches Einleiten von Stickstoff sollte die quantitative Überführung gewährleisten. Die Reaktion erfolgte während 10-stündigen Erhitzens auf einem Sandbad (ca. 130°C) unter Rückflußkühlung.

Bei der Reinigung des Reaktionsproduktes wurde jeweils die Hälfte der dunkelbraungefärbten Lösung fünfmal mit je 25 ml n-Hexan ausgeschüttelt. Der dabei auftretende schwarzgefärbte unlösliche Rückstand konnte durch Abdekantieren abgetrennt werden. Die vereinigten n-Hexan-Phasen wurden zur Entfernung des mitextrahierten

Jods zweimal mit je 25 ml 5%iger Na-Thiosulfat-Lösung und einmal mit Wasser gewaschen.

Jeweils 1/5 des Extrakts wurde mehrstufig säulenchromatographisch gereinigt. Die Säule hatte stets einen Innendurchmesser von 20 mm. Wegen der sehr leichten Zersetzlichkeit des Ethoxyquin in Chloroform (2) wurde im verdunkelten Labor gearbeitet.

Beim 1. Reinigungsschritt wurden 30 g standardisiertes Aluminiumoxid (Merck, Aktivitätsstufe II-III) und n-Hexan-Aceton (95:5) verwendet. Die zuerst die Säule verlassende gelbgefärbte Fraktion enthielt den Hauptanteil an Ethoxyquin.

Zur 2. Säulenchromatographie wurden 20 g Kieselgel 60 (Merck, Korngröße unter 0,063 mm) in Chloroform suspendiert und mit Chloroform-Aceton (98:2) eluiert. Die erste Fraktion - gelb mit orangefarbenem Ring - wies noch 3,25% an radiochemischer Verunreinigung auf. Mit ihr erfolgte der 3. Reinigungsschritt, bei dem wiederum Kieselgel 60, jedoch Lösungsmittelgemische steigender Polarität eingesetzt wurden. Es wurde sukzessiv eluiert mit a) Chloroform-n-Hexan (9:1), b) Chloroform und c) Chloroform-Aceton (98:2). Die Trennung ließ sich gut bei kurzzeitiger Betrachtung unter UV-Licht verfolgen. Die zuerst erscheinende gelbe Fraktion enthielt die radioaktive Verunreinigung angereichert, die folgende ebenfalls gelbgefärbte enthielt das Ethoxyquin mit einer radiochemischen Reinheit von > 99,5%.

LITERATUR

1. Knoevenagel, E. - Ber. detsch. chem. Ges. 54: 1730 (1921)
2. Skaare, J.U. and Dahle, H.K. - J.Agric.Food Chem.23: 1091 (1975)