

9,9'-Bis-(N-methylacridiniumnitrat)

Herstellung von Lucigenin in vier einfachen Stufen

Arbeitstechniken und Methoden:

Standardmethoden, Wasserdampf-Destillation, Soxhlet-Extraktion

Geräte:

Standard-Geräte, Wasserdampf-Kanne, Soxhlet-Extraktor

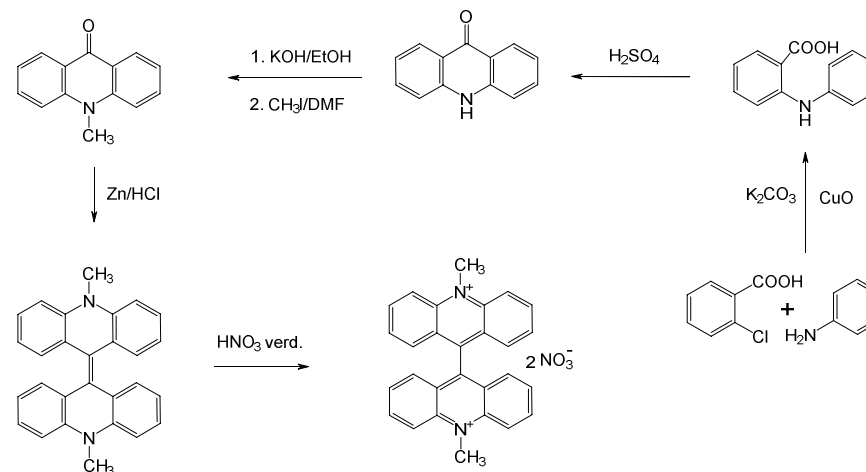
Chemikalien:

- | | |
|-----------------------|-------------|
| • o-Chlorbenzoesäure | (10.02 g) |
| • Anilin | (40.05 g) |
| • Kaliumcarbonat | (9.95 g) |
| • Kupfer-II-oxid | (0.25 g) |
| • Aktivkohle | (5.0 g) |
| • konz. Salzsäure | (20 mL) |
| • konz. Schwefelsäure | (ca. 30 mL) |
| • Natriumcarbonat | (8.0 g) |
| • Ethanol | (600 mL) |
| • Kaliumhydroxid | (1.3 g) |
| • abs. DMF | (50 mL) |
| • Methyljodid | (3.55 g) |
| • Zinkstaub | (3.20 g) |
| • 1 M Salpetersäure | (60 mL) |

Warnhinweise:

- Methyljodid ist giftig und krebserregend, da es leicht verdampft darf es nur im gut ziehenden Abzug verwendet werden. Anilin kann in toxischen Dosen über die Haut aufgenommen werden und darf nicht ins Abwasser gelangen.
- Konz. Schwefelsäure reagiert stark exotherm mit Wasser. Zink ist leicht entzündlich, setzt Wasserstoff aus Wasser frei und kann sich an der Luft selbstentzünden.
- Acridinon (Diphenylamin-2-carbonsäure) reizt die Atemorgane, die Augen und die Haut.

Reaktion:



N-Phenylanthranilsäure

o-Chlorbenzoesäure (10.02 g), Anilin (40.05 g), wasserfreies Kaliumcarbonat (9.95 g) und Kupfer-II-oxid (0.25 g) werden in einem 250-mL-Zweihals-Rundkolben gemischt und 2 h auf einem 180-200 °C warmen Sandbad am Rückfluss gekocht. Überschüssiges Anilin wird durch Wasserdampf-Destillation entfernt und die zurückbleibende braune Suspension wird mit Aktivkohle (5.0 g) versetzt. Die Mischung wird 15 min lang gekocht und heiß filtriert. Das Filtrat wird zu einer Mischung aus HCl (10 mL) und Wasser (20 mL) gegeben, dann wird die ausgefallene Säure abfiltriert und getrocknet (evtl. *azeotrope Trocknung mit Toluol am Rotationsverdampfer*).

Ausbeute: 10-13 g *N*-Phenylanthranilsäure, Schmp.: 185 °C. Die Säure kann noch gefärbt sein, ist aber für folgende Reaktion rein genug, um nicht umkristallisiert werden zu müssen.

Acridinon

Rohe, trockene *N*-Phenylanthranilsäure wird in konz. Schwefelsäure (2.25 mL H₂SO₄ pro Gramm *N*-Phenylanthranilsäure) gelöst und 1 h auf dem Wasserbad (80 °C) erhitzt. Die grüne, noch heiße Lösung wird langsam in fast kochendes Wasser (2 mL pro Gramm) gegossen.

(ACHTUNG: Das Spritzen kann minimiert werden, indem die Lösung an der Glaswand entlang in den Behälter gegossen wird).

Die gelbe Suspension wird 5 min gekocht, um eventuell gebildetes Acridonsulfat zu hydrolysieren und dann filtriert.

Das rohe Acridinon wird in einer Natriumcarbonat-Lösung (8.0 g in 100 mL Wasser) suspendiert, 5 min gekocht und abfiltriert; unreaktierte Säure kann durch ansäuern aus dem Filtrat zurückgewonnen werden. Das Rohprodukt wird in einer *Soxhlet*-Apparatur aus Ethanol über Nacht extrahiert. Dabei scheiden sich wundervoll gelbe Flocken aus der blau fluoreszierenden Lösung ab.

Ausbeute: ca. 80%

Schmp.: 350 °C

UV-VIS: λ_{\max} (Ethanol) = 381, 399 nm (ϵ 10.000);

λ_{\max} (Ethanol/KOH) = 393, 412, 436 nm (ϵ 9.500).

N-Methylacridinon

Acridinon (4.1 g) wird in heißer ethanolischer Kalilauge (1.3 g in 50 mL Ethanol) gelöst und ergibt eine klare gelbe Lösung. Das Ethanol wird am Rotationsverdampfer entfernt und der feste, strahlend gelbe Rückstand in abs. DMF (50 mL) gelöst. Methyljodid (3.55 g) wird langsam zugegeben.

ACHTUNG: *Methyljodid ist krebserregend; vorsichtig handhaben; Abzug! Verwendete Geräte gründlich mit 10%iger Ammoniak-Lösung nachspülen.*

Es entwickelt sich etwas Wärme und die Reaktion wird durch 10 min Erhitzen auf dem Wasserbad vervollständigt. Die Lösung wird in Wasser (25 mL) gegossen (*Was passiert dabei mit überschüssigem Methyljodid?*) und das Rohprodukt wird durch absaugen als Feststoff gewonnen. Sauberes *N*-Methylacridinon wird durch Umkristallisieren aus Ethanol in Form von strahlend gelben Nadeln aus der blau fluoreszierenden ethanolischen Lösung erhalten.

Ausbeute: 60-90%

Schmp.: 203 °C.

Lucigenin

N-Methylacridinon (1.0 g) wird in ethanolischer Salzsäure (50 mL Ethanol, 10 mL konz. HCl) gelöst und unter Rückfluss gekocht. Zur kochenden Lösung wird Zinkstaub (3.2 g) innerhalb von 15 min portionsweise zugegeben. Achten Sie darauf, dass kein Zinkstaub im Schliff hängen bleibt! (*Restliches Zink muss vernichtet werden. Wie machen Sie das?*). Die Mischung wird weitere 30 min unter Rückfluss gekocht und dann in Wasser (100 mL) gegeben, wobei die rohe Bis-Acrininium-Verbindung als grüner Niederschlag ausfällt. Ohne weitere Aufreinigung wird der Feststoff in verdünnter Salpetersäure (60 mL, 1 M) gelöst und 15 min im Wasserbad erhitzt. Die heiße Lösung wird, falls notwendig, filtriert und beim Abkühlen des Filtrates bilden sich glänzende orangene Flocken.

Ausbeute: 0.6-0.9 g.

Bei Bestrahlung mit einer UV-Lampe fluoresziert die verdünnte wässrige Lösung helles gelb-grünes Licht.

Chemoluminiszenz.

Es werden folgende zwei Lösungen angesetzt:

Lösung A

8.0 g NaOH in 70 mL Wasser

5.0 mL H₂O₂ (1.5%, 0.45 M)

30.0 mL Ethanol

Lösung B

0.1 g Lucigenin in 100 mL Wasser

(*Die Konzentrationen sind nicht entscheidend und können variiert werden.*)

In einem abgedunkelten Raum wird Lösung A vollständig in Lösung B gegeben, woraufhin ein wunderschönes gelb-grünes Licht erstrahlt, welches mit der Zeit bläulicher wird. Die Anwesenheit von *N*-Methylacridinon wird durch Bestrahlen der End-Lösung mit einer UV-Lampe überprüft, wobei intensive blaue Fluoreszenz beobachtet werden sollte.