

standenen Methylphosphonsäurediphenylester und wurde zur Verseifung dieses Esters 2 h bei 40° mit Äthanol KOH behandelt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde mit 200 ml verd. Kalilauge versetzt und mit Chloroform extrahiert. Die org. Phase wurde mehrmals mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Als Rückstand verblieb ein gelbliches Öl (1,2 g), das an Kieselgel chromatographiert wurde (CHCl₃/Methanol 95 : 5). Ausbeute: 0,6 g (23 % d. Th.) 5.

IR (Film auf NaCl): 3300, 3225, 3060 (NH), 1660 cm⁻¹ (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 5.8 (breit; NH), 5.4 (CH=CH), 3.1 (4H CH₂N), 2.9 (s; NCH₃).

1-Methyl-5-äthyl-5-hexyl-hexahydropyrimidon-(2) (6)

0,6 g (0,027 mol) des Olefins 5 wurden in 30 ml Äthanol mit 0,8 g 10proz. Pd/C (vorhydriert) unter H₂ bis zur Sättigung geschüttelt. Danach wurde vom Katalysator abfiltriert, das Äthanol entfernt und der Rückstand in Chloroform aufgenommen. Die CHCl₃-Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Zurück blieben 0,6 g eines gelblichen Öls, das durch Kugelrohrdestillation gereinigt wurde (Sdp._{0,1} ca. 127°). Ausbeute: 0,4 g (66 % d. Th.) 6.

IR (Film auf NaCl): 3280, 3220, 3060 (NH), 1650 cm⁻¹ (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 5.9 (breit; NH), 2.95 (4H CH₂N), 2.9 (s; NCH₃), 1.3 (CH₂). – MS (70 eV): m/e = 226 (62 % M⁺), 197 (40 %), 141 (54 %), 85 (26 %), 70 (100 %), 43 (31 %).

C₁₃H₂₆N₂O (226,37) Ber.: C 69,0 H 11,58 N 12,4; Gef.: C 68,7 H 11,35 N 12,3.

(Eingegangen am 9. März 1976).

Anschrift: Prof. Dr. J. Knabe, Fachrichtung Pharmazeutische Chemie der Universität des Saarlandes, Im Stadtwald, 6600 Saarbrücken.

[KPh 70]

Annemarie Ellinger, Roswitha Seidel und Karl-Artur Kovar

Zum Mechanismus der Jaffé-Reaktion auf Kreatinin

Die Jaffé-Reaktion¹⁾ auf Kreatinin mit Pikrinsäure im alkalischen Milieu ist von zahlreichen Autoren zur quantitativen Bestimmung im Harn und im Serum modifiziert worden²⁾. Die Extinktion der orangeroten Färbung wird nach 5–60 min. Reaktionszeit bei einer Wellenlänge zwischen 480 und 530 nm gemessen. Die Intensität ist abhängig von der Temperatur, der Reaktionszeit und der Konzentration an Pikrinsäure

1 M. Jaffé, Z. Physiol. Chem. 10, 399 (1886).

2 Vgl. R. Richterich, Klinische Chemie, 3. Aufl. S. 520, Verlag S. Karger AG, Basel 1971.

und NaOH. Aufgrund der gemessenen kinetischen Daten hält *Bartels* die Ausbildung eines π -Komplexes für wahrscheinlich³⁾. Im Gegensatz dazu hatte *Kimura* bereits 1955 einen σ -Komplex vorgeschlagen⁴⁾. Ein ähnlicher Komplex konnte von uns in der *Baljet*-Reaktion auf Cardenolide nachgewiesen werden⁵⁾. Im Unterschied zur letzteren ist die Farbauscheidung der *Jaffé*-Reaktion um ein Vielfaches verlangsamt. Nach 60 Min. ist das Extinktionsmaximum noch immer nicht erreicht. Für die eingesetzte Kreatininmenge errechnet sich nach dieser Zeit ein ϵ -Wert von >7500 . Wie bei der *Baljet*-Rk. wurden Differenzspektren verschiedener Pikratkonzentration in Probe- und Vergleichslösung aufgenommen (Abb. 1). Dabei wird deutlich, daß in sämtlichen Vorschriften das längerwellige Absorptionsmaximum der Doppelkurve eines Meisenheimer-Trinitrocyclohexadienat-Salzes gemessen wird⁵⁾. Aus der Kurve

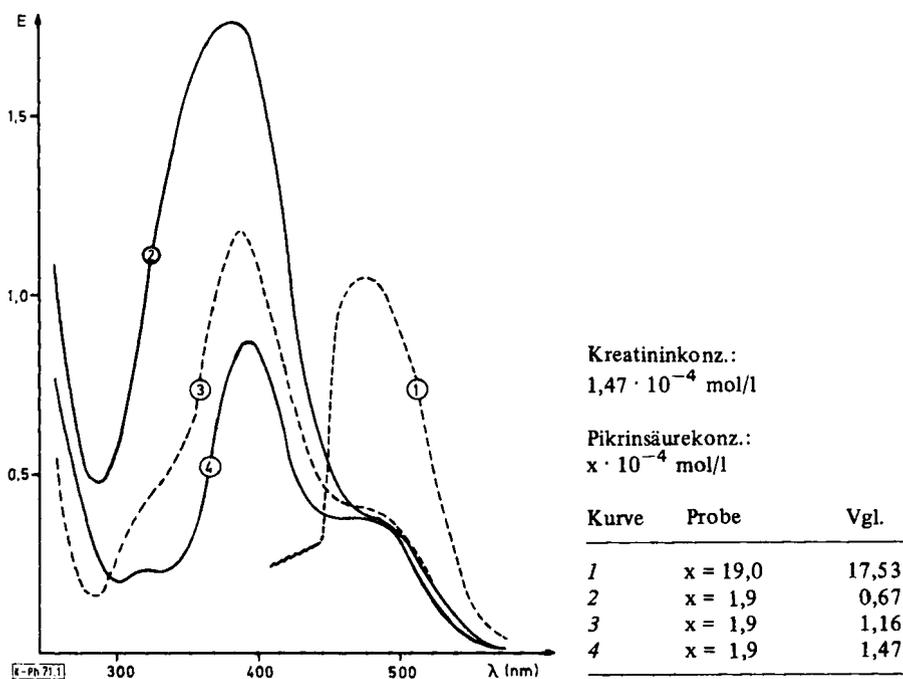


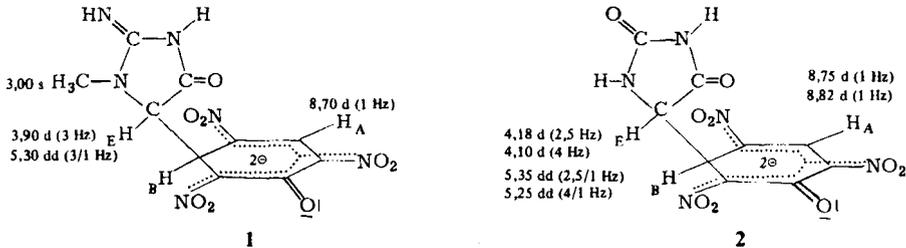
Abb. 1: Differenzelektronenspektren der *Jaffé*-Rk. in 0,3 N NaOH

3 H. Bartels und M. Cikes, Clin. Chim. Acta 26, 1 (1969).

4 M. Kimura, Pharm. Bull. 3, 81 (1955).

5 K.-A. Kovar, G. Francas und R. Seidel, Arch. Pharm. (Weinheim), im Druck.

4 geht hervor, daß sich während der 20 min. Reaktionszeit etwa 1/3 der eingesetzten Kreatininmenge umgesetzt hat. Dementsprechend lassen sich die molaren Extinktionskoeffizienten nach 20200 (395 nm) und 8600 (480 nm) korrigieren. Sie entsprechen nicht ganz dem für Trinitrocyclohexadienat-Komplexe geforderten Verhältnis von 2 : 1. Der Extinktionsunterschied vergrößert sich zeitlich und bei stärkerer Laugenkonzentration. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (äquimolare Mengen an Kreatinin-Na oder Hydantion-Na, Pikrinsäure und NaOCD_3 in DMSO-d_6) sind neben den Signalen des Kreatininpikrates [δ (ppm) = 8,68 (aromat. H), 3,80 (CH_2), 3,15 (CH_3)] die Resonanzen eines Trinitrocyclohexadienat-Adduktes (H_A und H_B) im Vergleich mit dem analogen Salz des Hydantions (2) zu lokalisieren. Die Addition erfolgt am Carbanion der ursprünglichen Methylengruppe im Kreatinin (H_E). Die niedrigen Kopplungskonstanten von <4 Hz sprechen für eine gauche-Stellung der beiden Ringe. Die vor allem bei geringer Pikratkonzentration langsame Reaktionszeit, welche eine



Gleichgewichtseinstellung und damit die Interpretation der NMR-Spektren erschwert, hat ihre Ursache in der Ausbildung von Kreatininpikrat, welches sich erst langsam im alkalischen Milieu zum σ -Komplex 1 umlagert (Abb. 2, Kurven 1–4).

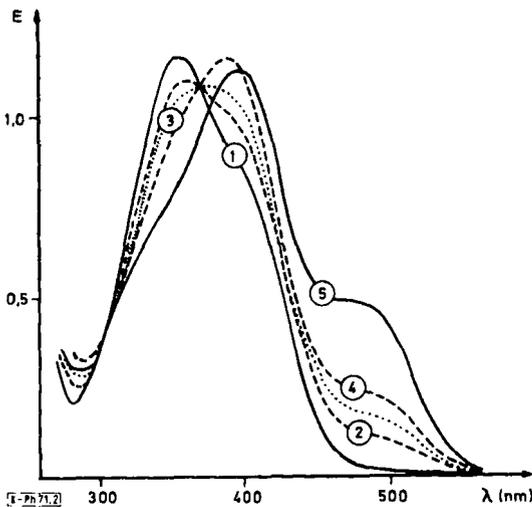
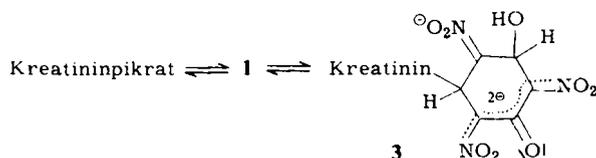


Abb. 2: Elektronenspektren von Kreatininpikrat ($c = 0,738 \cdot 10^{-4}$ mol/l) in 0,3 N NaOH

- 1 sofort gemessen
- 2 nach 20 min
- 3 nach 40 min
- 4 nach 120 min
- 5 nach 95 min unter Zusatz von je 1 ml 0,3 N HCl und H_2O zu 2 ml einer Stammlösg. von $1,476 \cdot 10^{-4}$ mol/l Kreatinin in 0,3 N NaOH

Die Kurvenschar geht durch die beiden isobestischen Punkte bei 305 und 371 nm. Das Verhältnis der Maxima (5 : 1) entspricht keinem Trinitrocyclohexadienat-Komplex. Offensichtlich ändert sich das Meisenheimer-Salz im alkalischen Milieu, denn Pikrinsäure allein addiert erst ab einer 2 N Laugenkonzentration zwei Mole Hydroxid zum Propenid-Komplex⁵⁾. Ein solcher Propenid-Komplex kann aus einer σ -Verbindung, wie z. B. aus dem Meisenheimer Acetonylpikrat⁶⁾, schon in geringer Laugenkonzentration innerhalb kürzester Zeit gebildet werden⁷⁾. Das Maximum liegt bei 395 nm. Daß ein Propenid-Komplex **3** entsteht, beweist die Rückläufigkeit der Reaktion nach sukzessiver Zugabe von 0,3 N HCl. Nunmehr erhält man im Übergang die typische Meisenheimer Kurve (5 in Abb. 2), die Extinktion ($\Delta \epsilon = 6650$) ist wesentlich höher als bei **4**. Weitere Säurezugabe läßt wieder das Keatininipikrat (Kurve 1) entstehen. Somit stehen bei der *Jaffé*-Reaktion Kreatininipikrat, Meisenheimer Salz **1** und Propenid-Komplex **3** miteinander im Gleichgewicht. Das in den verschie-



denen Ausführungen gemessene Maximum ab 480 nm entspricht der Ausbildung des Meisenheimer-Adduktes **1**. Beim Nachweis von Kreatinin mit 3,5-Dinitrobenzoesäure oder mit 1,3-Dinitrobenzol erhält man aufgrund der spektroskopischen Daten analoge σ -Verbindungen (vgl. ⁵⁾).

(Eingegangen am 10. März 1976)

6 K.-A. Kovar, Arch. Pharm. (Weinheim) 305, 379 (1972).

7 T. Kabeya, K. Kohashi, Y. Ohkura und T. Momose, Chem. Pharm. Bull. 21, 2168 (1973).

Anschrift: Prof. Dr. K.-A. Kovar, Pharmaz. Institut der Universität, Morgenstelle 8, 74 Tübingen.

[KPh 71]