

RÉSUMÉ

Un dosage ampérométrique simple (réalisé en une seule opération) et très rapide (25') du Ca et de Mg dans le sérum, l'urine et les calculs est proposé. Le calcium est dosé par l'ion éthylèneglycol-bis-(amino-2-éthyléther)-N,N'-tétracétate, et le magnésium, par l'ion éthylènediamine-tétracétate en présence d'un tampon (pH = 10,5) et d'un complexant (citrate-tartrate). Les courbes de polarisation montrent que le mercure est oxydé à 20 mV en présence d'EGTA ou d'EDTA. Le courant qui se manifeste dans ces conditions marque la fin des titrations. La précision est de $\pm 2,5\%$ pour le Ca et $\pm 5,0\%$ pour le Mg. Dans le cas de l'urine un traitement oxydant préalable est nécessaire (minéralisation complète ou traitement au KMnO_4). La précision est de $\pm 5,0\%$ pour les deux éléments.

Laboratoire de chimie minérale et analytique
de l'Université de Genève

Nous tenons à remercier le FONDS NATIONAL SUISSE, POUR LA SCIENCE ATOMIQUE, grâce auquel il nous a été possible de mener à bien ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] NILS E. SARIS, Duodécim. (Helsinki), 79, 482 (1963); H. SCHIRARDIN & P. MÉTAIS, Répert. médical pratique [13] 3, 17 (1962); A. A. ABD EL RAHEM, J. pharmaceut. Sci. United Arab Republ., cité d'après Chem. Abstr. 56, 7636a (1962); L. R. GJESSING, Scand. J. clin. Lab. Invest. 11, 190 (1959); G. H. HUNTER, Analyst, 84, 24 (1953).
[2] V. SCHMELAR & M. HODANOVA, Chem. Abstr. 59, 4261 (1963); J. ETTORI & S. M. SCOGGAN, Clin. chim. Acta, 6, 861 (1961).
[3] I. GREKH, Laboratornoe Delo 8, 8 (1962).
[4] D. MONNIER & A. ROUËCHE, Helv. 47, 103 (1964).

97. Über die Herstellung von 2-Amino-5-Pyrazincarbonsäure und Derivaten

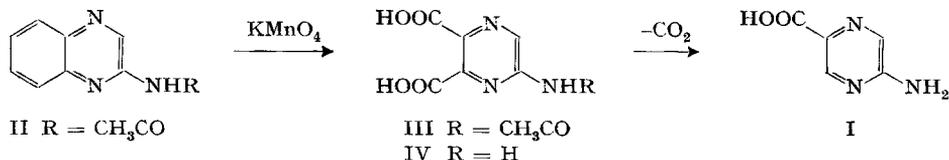
von E. Felder, D. Pitré und E. B. Grabitz

(9. III. 64)

Die von ELLINGSON & HENRY [1]¹⁾ nach der ROSENMUND'schen Methode aus dem nicht ohne weiteres zugänglichen 2-Amino-5-brom-pyrazin in geringer Ausbeute erhaltene 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure (I) hat infolge ihrer Isosterie mit *p*-Aminobenzoessäure noch in jüngster Zeit Interesse an einer einfachen Synthese erweckt [2]. 2,5-Dicarbamoyl-pyrazin bzw. 2-Carbamoyl-5-äthoxycarbonyl-pyrazin liessen sich nicht nach HOFFMANN zu I abbauen [1] [2]. Dagegen konnte durch CURTIUS'schen Abbau des 5-Äthoxycarbonyl-pyrazin-2-carbonsäureazids das 2-(N-Benzyl-oxycarbonylamino)-5-äthoxycarbonyl-pyrazin erhalten werden, das durch saure Hydrolyse in I übergeführt wurde [2].

¹⁾ Die Ziffern in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, Seite 876.

Im Rahmen unserer Arbeiten über Pyrazine suchten wir auch nach einer präparativ zufriedenstellenden Synthese von I. Am einfachsten erschien die Decarboxylierung einer Aminopyrazin-polycarbonsäure mit einer Carboxylgruppe in *para*-Stellung zur Aminogruppe. In der 2-Aminopyrazin-5,6-dicarbonsäure (IV) stand uns ein solches Zwischenprodukt zur Verfügung, welches durch partielle thermische Decarboxylierung in 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure (I) oder in 2-Aminopyrazin-6-carbonsäure übergehen kann. Es zeigte sich nun, dass unter geeigneten Reaktionsbedingungen überwiegend, wenn nicht sogar ausschliesslich, I entsteht. Bei der Synthese von IV gingen wir vom 2-Acetylaminochinoxalin (II) [3] aus, das durch die technisch entwickelte Synthese des 2-Aminochinoxalins von PFISTER *et al.* [4] leicht zugänglich ist. Das



Acetylderivat II wird in wässriger Lösung mit Kaliumpermanganat zur 2-Acetylaminopyrazin-5,6-dicarbonsäure (III) oxidiert, welche als Monokaliumsalz isoliert wird. Durch Hydrolyse von III mit Salzsäure wird die 2-Aminopyrazin-5,6-dicarbonsäure (IV) erhalten. Bei einer Überprüfung des Schmelzpunktes von IV auf dem KOFLER-Heiztisch beobachteten wir den Beginn der Decarboxylierung bereits bei 190–195°. Eine Decarboxylierung von trockenem IV im Vakuum bei 2 Torr mit gleichzeitiger Sublimation bei 220° (Ölbad) lieferte jedoch in nur 50-proz. Ausbeute ein noch unreines I vom Smp. 272° (Zers.). Nach Umkristallisation aus Wasser, wobei der Smp. auf 272–274° (Zers.) stieg, wies dieses Produkt einen potentiometrisch ermittelten Gehalt von 93% auf. Die Decarboxylierung von IV erfolgt besser durch kurzes Erhitzen in wässriger Suspension im Autoklaven auf 170–175°; man erhält in 77% Ausbeute ein verhältnismässig reines I vom Smp. 275° (Zers.), das nach einmaliger Umkristallisation aus Wasser analysenrein ist. Dieser kurze, übersichtliche und ausgiebige Syntheseweg erlaubte es uns einige neue Derivate von I herzustellen.

Experimentelles²⁾. – *Monokaliumsalz der 2-Acetylaminopyrazin-5,6-dicarbonsäure (III)*: Die Lösung von 3,2 g 2-Acetylaminochinoxalin [3] in 400 ml heissem Wasser wird auf dem Dampfbad bei 90–95° mit 16,5 g Kaliumpermanganat in kleinen Portionen innerhalb einer Std. versetzt. Man filtriert vom Mangandioxid ab, engt das Filtrat im Vakuum auf 15 ml ein, filtriert vom dabei entstandenen geringen Niederschlag ab und säuert das Filtrat mit 7 ml konz. HCl an. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und bei 80°/2 Torr getrocknet. Ausbeute 2,15 g (60%), Smp. 285–290° (Zers.). Für die Mikroanalyse wurde 1 g aus 20 ml Wasser unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert, wobei 0,5 g vom Smp. 293° (Zers.) erhalten wurden.

$\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_5\text{N}_3\text{K}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (281,28) Ber. C 34,16 H 2,87 N 14,94% Gef. C 34,87 H 2,71 N 15,31%

2-Aminopyrazin-5,6-dicarbonsäure (IV): Eine Lösung von 1 g Monokaliumsalz der 2-Acetylaminopyrazin-5,6-dicarbonsäure in 35 ml heissem Wasser wird mit 5 ml 1N HCl versetzt und 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser

²⁾ Die Smp. sind im offenen Röhrchen auf dem Apparat nach TOTTOLI bestimmt und nicht korrigiert. Die Elementaranalysen verdanken wir unserem mikroanalytischen Laboratorium (M. GRANDI).

gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 0,7 g vom Smp. 262° (Zers.). Umkristallisieren aus Wasser ergibt keine Smp.-Änderung. In den üblichen organischen Lösungsmitteln unlöslich. $C_8H_5O_4N_3 \cdot H_2O$ (201,15) Ber. C 35,83 H 3,51 N 20,90% Gef. C 35,61 H 3,69 N 20,77%

2-Aminopyrazin-5-carbonsäure (I): Eine Suspension von 7,5 g 2-Aminopyrazin-5,6-dicarbonsäure in 30 ml Wasser wird in einem 100-ml-Autoklaven 12 Min. auf 170–175° erhitzt (Aufheizzeit 20 Min.). Nach schnellem Abkühlen wird das Kristallinat abgesaugt und mit Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Ausbeute 4,0 g (77%), Smp. 275° (Zers.). Löslichkeit: in Wasser etwa zu 10/100 löslich; in Methanol und Äthanol nahezu unlöslich; in Äther und Chloroform unlöslich. Durch Umkristallisation aus 400 ml Wasser werden 3,4 g vom Smp. 282–283° (Zers.) erhalten. UV.-Spektrum in H_2O , λ_{max} 262 m μ ($\log \epsilon = 4,15$), λ_{max} 319 m μ ($\log \epsilon = 3,86$), isobestischer Punkt 266 m μ .

$C_8H_5O_2N_3$ (139,12) Ber. C 43,17 H 3,62 N 30,20% Gef. C 43,22 H 3,54 N 30,25%

2-Aminopyrazin-5-carbonsäure-methylester: Eine Suspension von 3,0 g 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure in 120 ml wasserfreiem Methanol wird unter Durchleiten von trockenem HCl 7 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die erhaltene Lösung wird im Vakuum zur Trockne eingedampft und mit einem Überschuss gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit Wasser, sehr wenig Methanol und Äther gewaschen. Ausbeute 2,3 g (70%), Smp. 228–229°. Löslichkeit: in Wasser, Methanol und Äthanol schwer löslich; in Chloroform sehr schwer löslich; in Äther unlöslich. Durch Umkristallisieren aus 150 ml Wasser werden 1,8 g vom Smp. 230–231° erhalten.

$C_8H_7O_2N_3$ (153,15) Ber. C 47,05 H 4,61 N 27,43% Gef. C 47,09 H 4,49 N 27,39%

2-Aminopyrazin-5-carbonsäure-äthylester: Eine Suspension von 1,4 g 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure in 80 ml abs. Äthanol wird unter Durchleiten von trockenem HCl 10 Std. unter Rückfluss erhitzt, wobei allmählich Lösung eintritt. Es wird im Vakuum zur Trockne eingedampft und mit einem Überschuss gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 1,0 g, Smp. 171–173°. Löslich in Äthanol; schwer löslich in Wasser und Chloroform; nahezu unlöslich in Äther. Umkristallisation aus 15 ml Wasser unter Zusatz von Aktivkohle ergibt 0,65 g vom Smp. 172–173°.

$C_9H_9O_2N_3$ (167,17) Ber. C 50,29 H 5,42 N 25,23% Gef. C 50,37 H 5,34 N 25,15%

2-Aminopyrazin-5-carbonsäureamid: Eine Suspension von 0,9 g 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure-methylester in 40 ml konz. Ammoniak wird im Einschlussrohr 3 Std. auf 100° erhitzt. Nach Abkühlen im Eisbad wird das Kristallinat abgesaugt und mit Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Ausbeute 0,5 g, Smp. 265–267°. In den üblichen organischen Lösungsmitteln unlöslich. Umkristallisation aus 25 ml Wasser ergibt 0,4 g farblose Nadeln, Smp. 266–267°.

$C_5H_6ON_4$ (138,14) Ber. C 43,48 H 4,38 N 40,56% Gef. C 43,71 H 4,40 N 40,58%

2-Hydroxypyrazin-5-carbonsäure: 1,39 g (0,01 Mol) 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure werden unter Erwärmen in 20 ml 2M H_2SO_4 gelöst. Man kühlt auf 5° ab, tropft unter Rühren eine Lösung von 0,83 g (0,012 Mol) $NaNO_2$ hinzu und lässt die Reaktionsmischung Zimmertemperatur annehmen. Nun wird 5 Min. auf 80° erwärmt und anschliessend im Eisbad abgekühlt. Es wird abgesaugt und mit wenig Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Ausbeute 0,8 g Smp. > 300°. Umkristallisation aus 20 ml Wasser ergibt 0,5 g. Löslichkeit: in Wasser schwer, in Äthanol sehr schwer löslich; in Chloroform und Äther unlöslich.

$C_5H_4O_3N_3 \cdot H_2O$ (158,12) Ber. C 37,98 H 3,83 N 17,71% Gef. C 37,65 H 3,88 N 17,52%

SUMMARY

2-Acetylaminoquinoxaline was oxidized with potassium permanganate to 2-acetylaminopyrazine-5,6-dicarboxylic acid which yielded 2-aminopyrazine-5,6-dicarboxylic acid by acid hydrolysis. This acid was decarboxylated in high yield to 2-aminopyrazine-5-carboxylic acid which was further converted into its methyl ester, ethyl ester and amide, and into 2-hydroxypyrazine-5-carboxylic acid.

Forschungsabteilung der
BRACCO INDUSTRIA CHIMICA, Mailand

LITERATURVERZEICHNIS

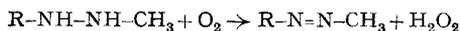
- [1] R. C. ELLINGSON & R. L. HENRY, J. Amer. chem. Soc. 71, 2798 (1949).
 [2] W. J. SCHUT, H. I. X. MAGER & W. BERENDS, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 80, 391 (1961); 82, 282 (1963).
 [3] J. WEIYLARD, M. TISHLER & A. E. ERICKSON, J. Amer. chem. Soc. 66, 1957 (1944).
 [4] K. PFISTER, A. P. SULLIVAN, J. WEIYLARD & M. TISHLER, J. Amer. chem. Soc. 73, 4955 (1951).

98. Metallionen-Katalyse bei der Autoxydation cytotostatischer Stoffe II

von H. Erlenmeyer, R. Zell, H. Brintzinger und B. Prijs

(21. III. 64)

Die Feststellung [1]¹⁾, dass die zur Bildung von H₂O₂ führende Autoxydation nicht nur der α -Aminoketone, sondern auch des tumorhemmenden Hydrazinderivates I [2] durch Metallionen beeinflusst werden kann, führt zur Frage: Welche Metallionen sind



I



(1)

bei dieser Katalyse besonders wirksam und wie wird sie durch Zusatz verschiedener Liganden beeinflusst? Bei früheren Versuchen [1] mit der Verbindung I war die Cu²⁺-Katalyse der H₂O₂-Bildung untersucht und ihre Verstärkung durch *o*-Phenanthrolin ermittelt worden.

Die zur Abklärung dieser Fragen unternommenen Autoxydationsversuche wurden nunmehr in Quarzgefässen und unter Verwendung von in Quarzgefässen bidestilliertem Wasser durchgeführt²⁾: In einer 10⁻²M Lösung von I in 6 · 10⁻²M Phosphatpuffer (pH = 7,5) wurde jeweils die nach 20 Std. freigesetzte H₂O₂-Menge ermittelt. Dass auch bei Einhaltung dieser Bedingungen noch katalytische Effekte auftreten, die vermutlich Metallionen-Spuren zuzuschreiben sind, zeigen die folgenden Ergebnisse: Zusatz von 5 · 10⁻⁴ bzw. 10⁻³M *o*-Phenanthrolin erhöht die H₂O₂-Freisetzung nach 20 Std. um einen Faktor von 4,3 bzw. 4,7 gegenüber dem Kontrollversuch, in welchem nach 20 Std. nur 12% der nach Reaktion 1 zu erwartenden H₂O₂-Menge freigesetzt waren. Die in diesem Versuch offenbar durch Phenanthrolin aktivierten Metallionen-Spuren können durch die verwendeten Stoffe eingeschleppt worden sein³⁾.

Zusätze von Eisen-, Kupfer- bzw. Zinksulfat allein in Konzentrationen von 2 · 10⁻⁷ verursachten keine Erhöhung der H₂O₂-Bildung gegenüber den Kontrollversuchen. Durch Zusätze von MnSO₄ (1 · 10⁻⁷, 2 · 10⁻⁷ und 5 · 10⁻⁷M) werden hingegen

¹⁾ Die Ziffern in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, Seite 878.

²⁾ Auf diese Weise wurden nicht nur die bei den Versuchen in Glasgefässen wirksamen Spuren von Metallionen, sondern auch die im bisher verwendeten Ionenaustauscher-Wasser oder an den Polyäthylengefässen vorhandenen organischen Verunreinigungen weitgehend ausgeschaltet.

³⁾ In den zur Herstellung des Phosphatpuffers verwendeten *pro analysi*-Reagenzien (MÉRCK) sind z. B. noch bis zu ca. 0,001% Eisen und andere Schwermetalle zu erwarten, was zu Konzentrationen von einigen 10⁻⁷ mMol/ml im Reaktionsmilieu führen würde.