

Die Reaktion von Singulett-Sauerstoff mit 4-Amino-3-pyrazolin-5-onen⁺

Hans-Jürgen Duchstein^{a)}, Gabriela Ruch-Zaske^{a)}, Gerhard Holzmann^{b)}, Eva Wollenberg^{c)} und Horst Weber^{c)*}

^{a)} Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 2+4, 1000 Berlin 33

^{b)} Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin, Takustr. 3, 1000 Berlin 33

^{c)} Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf, Universitätsstraße 1, 4000 Düsseldorf

Eingegangen am 12. Mai 1987

Die Titelverbindungen **1a-d** setzen sich in wäßriger Lösung bei pH 7.4 mit Singulett-Sauerstoff praktisch quantitativ zu den Hydraziden **3a-d** um. Die ¹H- und ¹³C-Spektren von **3** zeigen das Vorliegen rotationsisomerer Formen bei Raumtemp. Die Produkte **3** werden unter Elektronenstoßionisation massenspektrometrisch untersucht.

Reaction of ¹O₂ with 4-Amino-3-pyrazolin-5-ones

The title compounds **1a-d** react with ¹O₂ in aqueous buffer (pH = 7.4) to form the hydrazides **3a-d** in nearly quantitative yields. The ¹H- and ¹³C-nmr spectra of **3** indicate the presence of rotameric isomers at room temperature. Products **3** are investigated by means of mass spectrometry.

Aktiver Sauerstoff spielt in der Arachidonsäurekaskade eine wichtige Rolle, wobei außer einer Beteiligung von Sauerstoffradikalen¹⁻³⁾ auch die Mitwirkung von Singulett-Sauerstoff diskutiert wird^{4,5)}. Aus der Reihe antiinflammatorisch wirksamer Substanzen mit Hemmung der Prostaglandinsynthese wurden bereits Indometacin⁶⁾ sowie Dihydro-1H-pyrrolizine⁷⁾ auf ihre Reaktivität gegenüber Singulett-Sauerstoff untersucht. Es ist bekannt, daß auch Isopropylaminophenazon **1c** die Prostaglandinsynthese beeinflussen kann⁸⁾. Deshalb schien es notwendig, die Reaktion der 4-Aminopyrazolinone **1** mit ¹O₂ zu untersuchen.

Wäßrige Lösungen von **1a-d** wurden bei pH 7.4 und Raumtemp. mit photochemisch erzeugtem Singulett-Sauerstoff behandelt, und der Reaktionsverlauf wurde dc kontrolliert. In allen Fällen entstehen die analogen Endprodukte **3a-d**. Unterschiede bestehen nur in der Dauer bis zur praktisch quantitativen Umsetzung. Es ist anzunehmen, daß sich intermediär Dioxetane **2** bilden, die jedoch thermisch so instabil sind⁹⁾, daß sie nicht nachzuweisen waren, auch wenn die Photooxidation bei -60° in MeOH durchgeführt wurde.

3d ist als Oxidationsprodukt von Aminophenazon bekannt¹⁰⁻¹²⁾, bei dessen cerimetrischer Bestimmung auch **3b** als Nebenprodukt identifiziert werden konnte¹³⁾. Dagegen wurde **3c** erst kürzlich durch Photolyse von kristallinem **1c** in 0.6 % Ausbeute erhalten¹⁴⁾. Dabei fällt auf, daß für das ¹H-

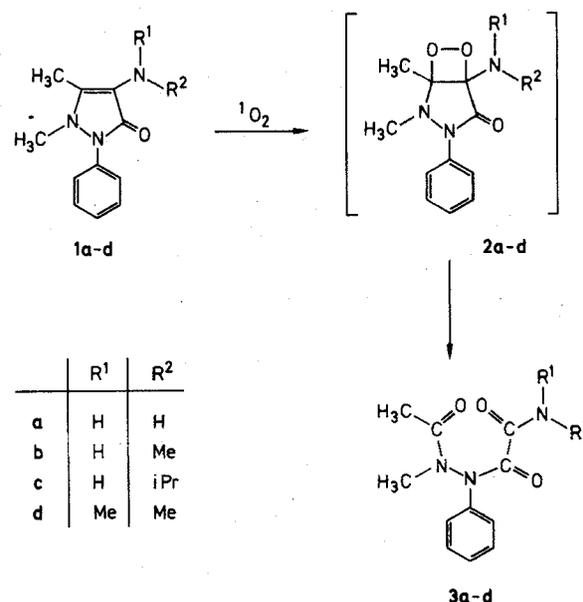
NMR-Spektrum von **3c** einheitliche Resonanzsignale angegeben werden, obwohl für **3d** ein komplexes Protonenspektrum bekannt ist, was auf die Existenz rotationsisomerer Formen zurückgeführt wird¹⁵⁾. Wir haben diesen Effekt in den ¹H-NMR-Spektren aller dargestellten Hydrazide beobachtet. Bei einer Meßtemp. 26° kommt es in Abhängigkeit vom Lösungsmittel zu einer unterschiedlich starken Aufspaltung der Resonanzsignale im Verhältnis von ca. 1:1, wobei die chemische Verschiebung der Teilsignale für die Singulets der Acetyl- bzw. Hydrazid-Methylgruppen in [D₆] Benzol besonders stark voneinander abweicht (Tab. 1).

Auch in den breitbandenkoppelten ¹³C-NMR-Spektren lassen sich die Rotationsisomere differenzieren. So findet man bei -30° in CDCl₃ für die drei Carbonyl-C-Atome von **3c** insgesamt 12 Signale⁸⁾, was auf die Beteiligung von wenigstens vier Rotameren schließen läßt. Die Effekte auf die übrigen C-Signale sind z. T. weniger stark ausgeprägt, so daß nicht immer ein Satz von 4 Resonanzlinien beobachtet wird. Die Koaleszenztemperaturen liegen für alle Hydrazide **3** im Bereich zwischen 95 und 105° ([D₆]DMSO).

Tab. 1: ¹H-NMR-Daten von **3a-d** in CDCl₃^{a)} und in [D₆] Benzol^{b)} bei 26°; δ (ppm)

	-CO-CH ₃	-N-N-CH ₃
3a ^{a)}	2.13/2.18	3.18/3.33
3a ^{b)}	1.61/1.96	2.79/3.06
3b ^{a)}	2.13/2.18	3.18/3.36
3b ^{b)}	1.63/2.02	2.85/3.12
3c ^{a)}	2.15/2.20	3.20/3.35
3c ^{b)}	1.64/2.05	2.86/3.15
3d ^{a)}	2.18/2.25	3.25/3.31
3d ^{b)}	1.60/2.10	2.86/3.05

^{a)} Auszugsweise vorgetragen auf der Jahrestagung der ÖPhG und DPhG in Innsbruck, September 1986.



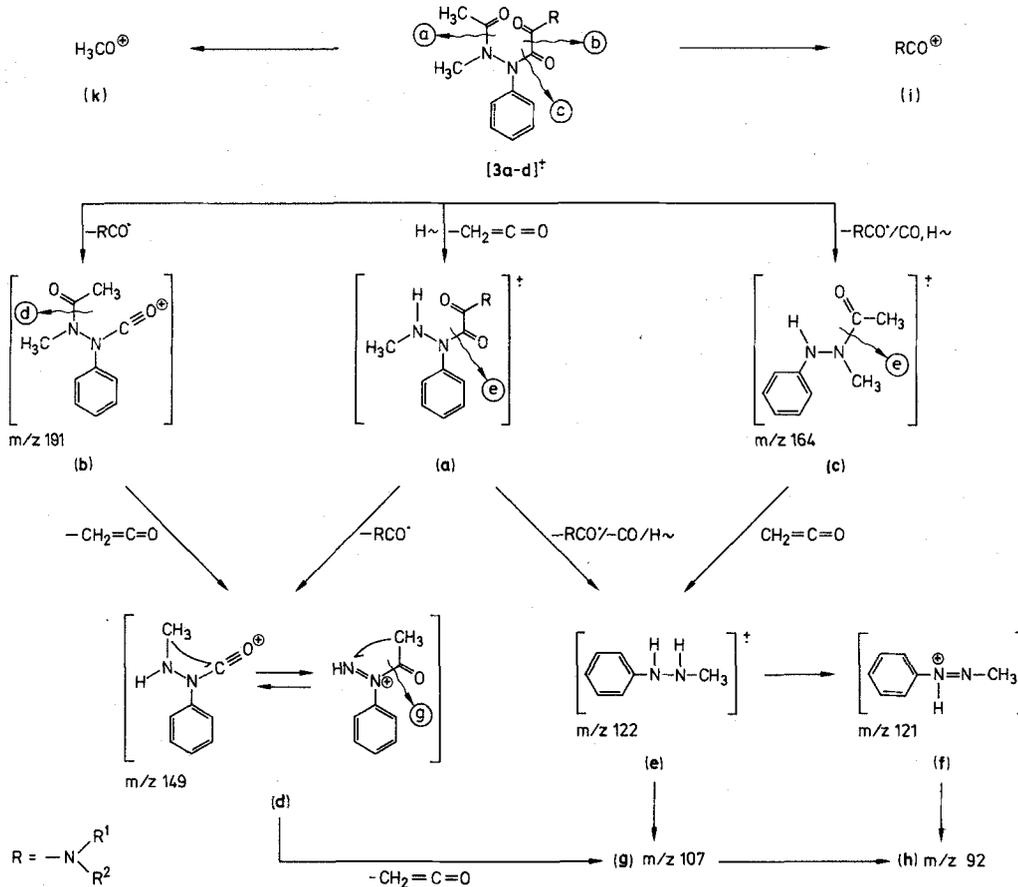
Massenspektren von 3

Massen, Intensitäten und elementare Zusammensetzung der Molekül- und Fragmentionen von 3a-d sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Die Analyse metastabiler Übergangssignale¹⁶⁻¹⁸ ergibt charakteristische Fragmentierungsmuster (Schema 1). Typisch ist die Beteiligung von R-CO-Einheiten bei der Bildung

der Ionen b-e und i, die konkurrierend oder in Kombination zur Ketneliminierung auftritt, wobei die Ionen a, d und e entstehen. Bemerkenswert ist, daß das Ion i beim Dimethylaminderivat 3d die höchste Intensität aufweist. Hier sind die Fragmentierungswege über a-c nur schwach ausgeprägt, dominieren aber bei den sekundären Aminen 3a-c, so daß in diesen Fällen f als Basispeak nachgewiesen wird.

Dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für Sachbeihilfen.



Tab. 2: Massenspektren von 3. Relative Intensitäten (% B). Bezeichnung der Ionen entsprechend Schema 1

Ion	m/z	Elementare Zusammensetzung	3a	3b	3c	3d
M ⁺			235(2.6) C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃	249(2.9) C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃	277(2.5) C ₁₄ H ₁₉ N ₃ O ₃	263(2.6) C ₁₃ H ₁₇ N ₃ O ₃
(a)	[M - C ₂ H ₂ O]		193(10)	207(25)	235(11.3)	221(12.8)
(b)	191	C ₁₀ H ₁₁ N ₂ O ₂	(39.5)	(60.3)	(81.3)	(14.5)
(c)	164	C ₉ H ₁₂ N ₂ O	(44.7)	(42.6)	(71.3)	(2.6)
(d)	149	C ₈ H ₉ N ₂ O	(3.2)	(5.9)	(8.0)	(2.1)
(e)	122	C ₇ H ₁₀ N ₂	(52.6)	(64.7)	(85.0)	(2.5)
(f)	121	C ₇ H ₉ N ₂	(100)	(100)	(100)	(33.3)
(g)	107	C ₆ H ₇ N ₂	(28.9)	(17.7)	(16.3)	(0.8)
(h)	92	C ₆ H ₆ N	(52.6)	(19.1)	(18.8)	(2.6)
	77	C ₆ H ₅	(23.7)	(16.2)	(16.3)	(4.3)
(i)	RCO ⁺		44(5)	58(20.6)	86 (3.0)	72 (100)
(k)	43	C ₂ H ₃ O	(28.9)	(19.1)	(48.8)	(7.7)
Zusätzliche Ionen:				134 (2.2) 119 (8.8)	207 (8.8) 180 (8.8) 138(10.5) 137 (9.8) 119(15.0)	235 (3.0) 193 (3.0) 164 (2.6)

Experimenteller Teil

IR: Perkin Elmer 177. – ^1H und ^{13}C -NMR: Varian CFT 20 (80 bzw. 20 MHz). – MS: Massenspektrometer MAT 711; Elektronenstoßionisation 80 eV; Emission 0.7 μA ; Direktverdampfung bei 40°; Temp. der Ionenquelle 120°; Auflösung 2000 (rel. Tal Def.); Hochauflösungen (15000) nach dem peak-match-Verfahren. – SC: Kieselgel 60 (0.062–0.2). – DC: Kieselgel-Fertigplatten Merck Nr. 5554; Fließmittel Ethylacetat. Pufferlösung pH 7.4: 1.179 g KH_2PO_4 und 4.30 g Na_2HPO_4 werden zu 1 l Wasser gelöst.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Reaktion von 1 mit $^1\text{O}_2$

Die Lösung von 1 g **1** und 100 mg Methylenblau in 300 ml Pufferlösung pH 7.4 wird in einer Bestrahlungsapparatur¹⁹⁾ 15 min mit O_2 vorgesättigt und im O_2 -Strom bei 20° bis zur Beendigung der Reaktion bestrahlt. Die Lösung wird mit CHCl_3 extrahiert und der Extrakt sc durch Elution mit CHCl_3 gereinigt.

Aminooxoessigsäure-2-acetyl-2-methyl-1-phenylhydrazid (3a)

Aus **1a** nach 2 h Ausb. 95 %. Farblose Kristalle, Schmp. 114–115° (Petrolether 60–80°). – Rf = 0.26. – IR (KBr): 3320, 3160, 1680 (br.), 1495, 1300, 750 cm^{-1} . – $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$ (235.2) Ber. C 56.2 H 5.57 N 17.9 Gef. C 56.1 H 5.52 N 17.8.

Methylaminoxoessigsäure-2-acetyl-2-methyl-1-phenylhydrazid (3b)

Aus **1b** nach 4 h Ausb. 94 %. Fast farbloses Öl mit Kristallisationsneigung. – Rf = 0.23. – IR (KBr): 3430, 3000, 1680 (br.), 1490, 1380 cm^{-1} . – $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ (249.3) Ber. C 57.8 H 6.07 N 16.9 Gef. C 57.6 H 6.42 N 16.8.

Isopropylaminoxoessigsäure-2-acetyl-2-methyl-1-phenylhydrazid (3c)

Aus **1c** nach 3 h Ausb. 96 %. Farblose Kristalle, Schmp. 121–122° (Ether). – Rf = 0.39. – IR (KBr): 3280, 3070, 2980, 1680, 1660 (br.), 1370, 1260, 770 cm^{-1} . – $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$ (277.3) Ber. C 60.6 H 6.91 N 15.2 Gef. C 60.6 H 6.93 N 15.2.

Dimethylaminoxoessigsäure-2-acetyl-2-methyl-1-phenylhydrazid (3d)

Aus **1d** nach 6 h Ausb. 90 %. Farblose Kristalle, Schmp. 92–93° (Ether). – Rf = 0.21. – IR (KBr): 3000, 1675 (br.), 1495, 1350 cm^{-1} . $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ (263.3) Ber. C 59.3 H 6.51 N 16.0 Gef. 59.3 H 6.54 N 15.9.

Literatur

- 1 R. W. Egan, J. Paxton und F. A. Kuehl, *J. Biol. Chem.* **251**, 7329 (1976).
- 2 F. A. Kuehl, J. L. Humes, R. W. Egan, E. A. Ham, G. C. Beveridge und G. C. van Arman, *Nature (London)* **265**, 170 (1977).
- 3 F. A. Kuehl, *Acta Rheumatol. Belg.* **1**, 179 (1977); *C. A.* **90**, 37158 s (1979).
- 4 P. J. O'Brien und A. Rahimtula, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **70**, 893 (1976).
- 5 E. Cadenas, H. Sies, W. Nastainczyk und V. Ullrich, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **364**, 519 (1983).
- 6 H.-J. Duchstein, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **318**, 127 (1985).
- 7 G. Dannhardt und L. Steindl, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **318**, 663 (1985).
- 8 Dissertation G. Ruch-Zaske, FU Berlin 1985.
- 9 W. Adam, H. Platsch und E. Schmidt, *Chem. Ber.* **118**, 4358 (1985).
- 10 R. Charonnat und R. Delaby, *C. R. Acad. Sci.* **189**, 850 (1929).
- 11 E. Schulek und P. Menyhart, *Z. Anal. Chem.* **89**, 426 (1932).
- 12 H. Tomankowa und J. Zyka, *Microchem. J.* **20**, 132 und 367 (1975).
- 13 I. P. Koka, *Farmatsiya (Moscow)* **33**, 37 (1984); *C. A.* **101**, 177620 g (1984).
- 14 J. Reisch, N. Ekiz und T. Güneri, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **319**, 973 (1986).
- 15 G. Szasz, A. Kovacs und L. Ladanyi, *Acta Pharm. Hung.* **48**, 221 (1978); *C. A.* **90**, 29074 w (1979).
- 16 R. K. Boyd und J. H. Beynon, *Org. Mass Spectrom.* **12**, 163 (1977).
- 17 A. F. Weston, K. R. Jennings, S. Evans und R. M. Elliott, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **20**, 317 (1976).
- 18 G. Holzmann und G. Koßmehl, *Org. Mass Spectrom.* **15**, 336 (1980).
- 19 G. Wurm und U. Geres, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **318**, 931 (1985).

[Ph 338]