

Synthese von 4-(Δ^4 -Thiazolin-2-yliden-hydrazono)- Δ^4 -pyrazolin-5-onen durch oxidative Kupplung**W.-D. Pfeiffer und E. Bulka**

Greifswald, Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Fachrichtung Chemie

N. Ahrens

Greifswald, Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Klinik für Neurologie und Psychiatrie

Bei der Redaktion eingegangen am 26. Juni 1991

Synthesis of 4-(Δ^4 -Thiazolin-2-yliden-hydrazono)- Δ^2 -pyrazolin-5-ones by Oxidative Coupling

Bei der Kondensation von 4-Alkyl-thiosemicarbaziden mit α -Halogenketonen sind theoretisch drei isomere Schwefelheterocyclen zu erwarten: 2-Alkyl-6H-1,3,4-thiadiazine, 2-Imino-3-amino- Δ^4 -thiazoline und 2-Hydrazono-3-alkyl- Δ^4 -thiazoline. Welches Isomere bevorzugt oder ausschließlich entsteht, hängt von der H^+ -Ionenkonzentration, der Temperatur und den Substituenten ab. Zum Strukturbeweis wurden die erhaltenen 2-Hydrazono-3-alkyl- Δ^4 -thiazoline mit α -Naphthol oxidativ zu p-Naphthochinon- Δ^4 -thiazol-2-yliden-hydrazonen gekuppelt [1 – 3].

Es ist bekannt, daß 2-Hydrazono-3-alkyl(aryl)- Δ^4 -thiazoline (**1a–f**) mit der reaktiven Methylengruppierung des 1-

Phenyl-3-methyl- Δ^2 -pyrazolin-5-ons (**2**) zur Umsetzung gebracht werden können. Löst man die Komponenten in Dimethylformamid und versetzt mit Ammoniak und einer Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung, so erfolgt eine oxidative Kupplung zu 4-[Δ^4 -Thiazolin-2-yliden-hydrazono]- Δ^2 -pyrazolin-5-onen **3a–f** (vgl. Tab. 1). Bemerkenswert ist, daß die Reaktion auch enzymkatalysiert ablaufen kann. So werden die Farbstoffe **3a–f** ebenfalls gebildet, wenn man **1a–f** und **2** in Gegenwart von Peroxidase/Wasserstoffperoxid umsetzt. Diese oxidative Kupplung läßt sich sowohl in wäßriger Lösung unter Zusatz eines Phosphatpuffers als auch in Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid oder Ethylenglykol-

Tabelle 1 4-[Δ^4 -Thiazolin-2-yliden-hydrazono]-1-phenyl-3-methyl- Δ^2 -pyrazolin-5-one (**3a–f**)

Verb.	R ¹	R ²	R ³	Ausb. ^{a)} in % Methode A	F. in °C	Summen- formel (Molmasse)	Analyse ber./gef.			UV/VIS ^{d)} $\lambda_{\max}$ in nm (lg ϵ)
							C	H	N	
3a	Ph	Ph	Me	98	277 – 278 ^{b)}	C ₂₆ H ₂₁ N ₅ OS (451,6)	69,15 69,08	4,68 4,75	15,50 15,46	246 (4,43) 486 (4,42)
3b	Ph	Ph	Ph	97	257 – 258 ^{c)}	C ₃₁ H ₂₃ N ₅ OS (513,6)	72,49 72,39	4,51 4,62	13,63 13,57	243 (4,21) 490 (4,18)
3c	Ph	Ph	iPr	96	232 – 233 ^{c)}	C ₂₈ H ₂₅ N ₅ OS (479,6)	70,12 70,18	5,25 5,32	14,60 14,77	246 (4,40) 495 (4,44)
3d	Me	Ph	Me	96	243 ^{b)}	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ OS (389,5)	64,75 64,63	4,91 4,98	17,98 18,08	248 (4,35) 476 (4,43)
3e	Me	Ph	Ph	96	251 ^{b)}	C ₂₆ H ₂₁ N ₅ OS (451,6)	69,15 69,08	4,68 4,74	15,50 15,21	246 (4,40) 482 (4,42)
3f	EtO ₂ C	Me	Me	96	283 ^{b)}	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ OS (385,5)	56,08 56,12	4,96 5,01	18,17 18,20	252 (4,01) 460 (3,95)

^{a)} Ausb. nach Methode B quantitativ^{b)} Aus Dioxan^{c)} Aus Ethylenglykolmonomethylether^{d)} In EtOH

Tabelle 2 ^1H -NMR-Daten der 4- $[\Delta^4$ -Thiazolin-2-yliden-hydrazono]-1-phenyl-3-methyl- Δ^2 -pyrazolin-5-one (**3a–f**)

Verb. ^{a)}	ppm CDCl_3/TMS
3a	2,54 (s, 3 H, Me), 3,46 (s, 3 H, N- CH_3), 7,65 (m, 15 H, 3 Ph)
3b	1,96 (s, 3 H, Me), 7,57 (m, 20 H, 4 Ph)
3c	1,70 (d, 6 H, 2 Me, $J = 6 \text{ Hz}$), 2,55 (s, 3 H, Me), 4,20 (q, 1 H, N-CH, $J = 6 \text{ Hz}$), 7,65 (m, 15 H, 3 Ph)
3d	2,12 (s, 3 H, Me), 2,51 (s, 3 H, Me), 3,44 (s, 3 H, N-Me), 7,76 (m, 10 H, 2 Ph)
3e	1,99 (s, 3 H, Me), 2,21 (s, 3 H, Me), 7,60 (m, 15 H, 3 Ph)

^{a)} **3f** wegen Schwerlöslichkeit nicht vermessen

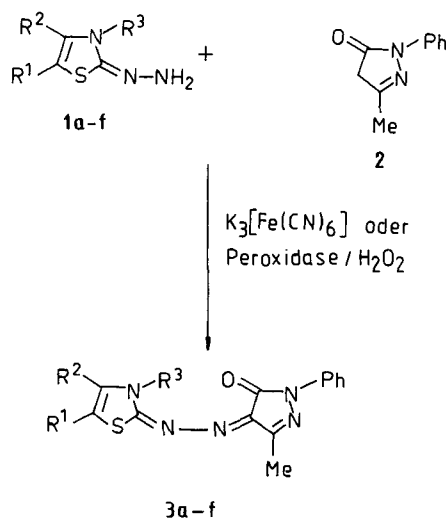
monomethylether durchführen. Die Bildung der 4- $[\Delta^4$ -Thiazolin-2-yliden-hydrazono]- Δ^2 -pyrazolin-5-one **3a–f** kann als Nachweisreaktion der Peroxidase in der Biochemie und der klinisch-chemischen Laboratoriumsdiagnostik genutzt werden [4]. So ist diese oxidative Kupplungsreaktion beispielsweise zur Lokalisation von intrazellulären Peroxisomen, Mitochondrien und anderen peroxidasepositiven Organellen bzw. Zellbereichen in Gewebeschnitten geeignet. Die Korrelation zwischen intrazellulärer katalytischer Aktivität der Wasserstoffperoxydspaltung und des Färbeindex erlaubt eine mikroskopische Feindifferenzierung sowie eine zytometrische Quantifizierung bis hin zu Subdarstellungen auf elektronenmikroskopischer Ebene. Die unter B angegebene peroxidasekatalysierte Reaktion gestattet gegenüber den in der Literatur beschriebenen Methoden [5] eine wesentlich verbesserte Graduierung der Enzymaktivität und ist zur Diagnostik bösartiger Erkrankungen der weißen Blutkörperchen (Leukosen) sowie aller weiteren Erkrankungen, die zur Verschiebung der Altersstufen neutrophiler Leukozyten führen, geeignet [6].

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroheiztisch nach Boëtius bestimmt. Die UV/VIS-Spektren sind auf einem Gerät UNICAM SP 1800 aufgenommen. Die Kernresonanzuntersuchungen erfolgten auf einem NMR-Spektrometer KRH 100 R ZWG der Akademie der Wissenschaften.

4- $[\Delta^4$ -Thiazolin-2-yliden-hydrazono]- Δ^2 -pyrazolin-5-one (**3a–f**) (allgemeine Arbeitsvorschriften).

Methode A. 1 mmol des entsprechenden 2-Hydrazono-3-alkyl-(aryl)- Δ^4 -thiazolins (**1a–f**) und 0,174 g (1 mmol) 1-Phenyl-3-methyl- Δ^2 -pyrazolin-5-on **2** werden in 100 ml DMF gelöst und mit 50 ml H_2O verdünnt. Unter Rühren läßt man 20 ml einer 20proz. Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung und 5 ml einer konz. NH_3 -Lösung zufließen. Nach einigen Minuten wird zur Vervollständigung der Fällung mit Wasser verdünnt.



Methode B. 1 mmol des entsprechenden 2-Hydrazono-3-alkyl-(aryl)- Δ^4 -thiazolin-hydrochlorids (**1a–f**·HCl) wird in 100 ml Wasser gelöst. Man fügt 0,174 g (1 mmol) 1-Phenyl-3-methyl- Δ^2 -pyrazolin-5-on **2** in 20 ml DMF sowie 0,15 ml einer 30proz. H_2O_2 -Lösung hinzu. Bei Zugabe von 10 mg Peroxidase (spez. Aktivität $533 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg Protein}^{-1}$) in 10 ml Phosphatpuffer (pH 7,1) bildet sich ein roter Farbstoff. Anstelle der Hydrochloride von **1a–f** können auch die freien Basen **1a–f** verwendet werden. Hierzu löst man 1 mmol der Basen in 150 ml DMF, 150 ml DMSO oder 200 ml Ethylenglykolmonomethylether.

Literaturverzeichnis

- [1] E. Bulka, H.-G. Rohde, H. Beyer, Chem. Ber. **98** (1965) 259
- [2] W.D. Pfeiffer, E. Dilk, E. Bulka, Z. Chem. **17** (1977) 218
- [3] E. Bulka, W.D. Pfeiffer, C. Tröltzsch, E. Gärtner, D. Daniel, Collect. Czech. Chem. Commun. **43** (1978) 1227
- [4] W.D. Pfeiffer, E. Bulka, DDR-Patent 295366 (31.10.91)
- [5] Z. Lojda, r. Gossrau, T.H. Schiebeler: in Enzyme Histochemistry, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1979, p. 248
- [6] W.D. Pfeiffer, N. Ahrens, E. Bulka: unveröffentlichte Versuche

Korrespondenzanschrift

Priv.-Doz. Dr. habil. Wolf-Diethard Pfeiffer
 Fachrichtung Chemie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität
 Greifswald
 Soldtmannstr. 16
 O-2200 Greifswald, Bundesrepublik Deutschland