

126. Über die Autoxydation eines α -Aminoketon-Derivates und ihre Beeinflussung durch Metall-Ionen

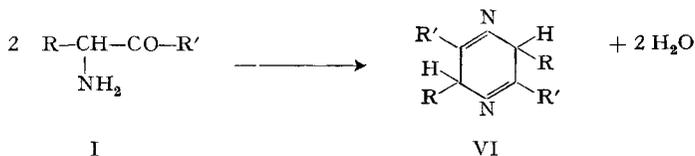
von R. Zell und H. Erlenmeyer

(12. II. 66)

Einige α -Aminoketone [1] hatten sich, besonders bei höheren pH-Werten, im *Xenopus*-Regenerationstest als wachstumshemmend erwiesen [2]. In neuerer Zeit wurde nun gezeigt, dass diese biologische Aktivität der Aminoketone nicht auf einer Antimetabolitwirkung beruht, welche auf Grund der Strukturähnlichkeit zu Aminosäuren denkbar wäre, sondern auf ihrer Fähigkeit zur Autoxydation, bei der H_2O_2 freigesetzt wird [3]. Das Ausmass der H_2O_2 -Freisetzung steigt ebenso wie die biologische Aktivität stark mit dem pH des Reaktionsmilieus an.

Bei dem Versuch, die H_2O_2 -Ausbeute, welche eine Resultante aus Bildung und Zerfall darstellt, bis zu einem Höchstwert zu steigern, hat sich die Katalyse durch bestimmte Metall-Ionen wie Fe^{2+} , Cu^{2+} und Zn^{2+} (10^{-7} bis $10^{-6}M$) als wirksam erwiesen [4] [5].

Der Verlauf der Autoxydation solcher α -Aminoketone erscheint gesichert [3]: Durch Kondensation zweier Molekeln von I entsteht zunächst ein Dihydropyrazin VI, welches mit O_2 unter Ausbildung des entsprechenden Pyrazins und Freisetzung von



H_2O_2 weiter reagiert (Schema 1 in [3]). Pro Mol Substrat wird hier maximal $1/2$ Mol H_2O_2 gebildet.

Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Molekeln Aminoketon zu einem Dihydropyrazin zusammentreten, hängt von der Konzentration des Aminoketons ab. Damit wird die Feststellung von STRÄULI [6] verständlich, dass mit I nur bei lokaler Applikation Tumorregressionen zu erzielen sind. Bei nicht-lokaler Zufuhr des Aminoketons I erfolgt durch den Resorptionsweg im Organismus eine Verminderung der H_2O_2 -Bildung, und zwar in Abhängigkeit vom Quadrat der Konzentration an I am Erfolgsort.

Wir haben es nun unternommen, durch Verknüpfen der Molekel I mit einem Leucinrest eine Verbindung aufzubauen, welche direkt durch *intramolekulare* Kondensation in das entsprechende Dihydropyrazin-Derivat übergehen kann. Dadurch wird die Wirkung der Verdünnung auf die Bildungswahrscheinlichkeit eines solchen Körpers ausgeschaltet. Bei der Autoxydation kann hier maximal die doppelte Menge, also 1 Mol H_2O_2 pro Mol Substrat, gebildet werden.

Die Synthese des 4-(N-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanons (V) gelang ausgehend von 4-Amino-6-methyl-3-heptanon (I) nach folgendem Schema:

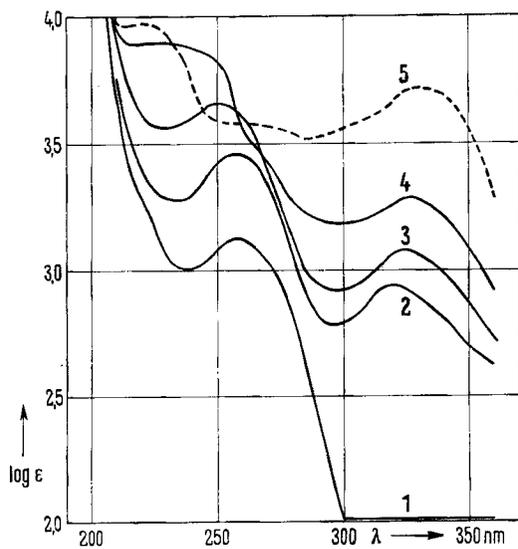
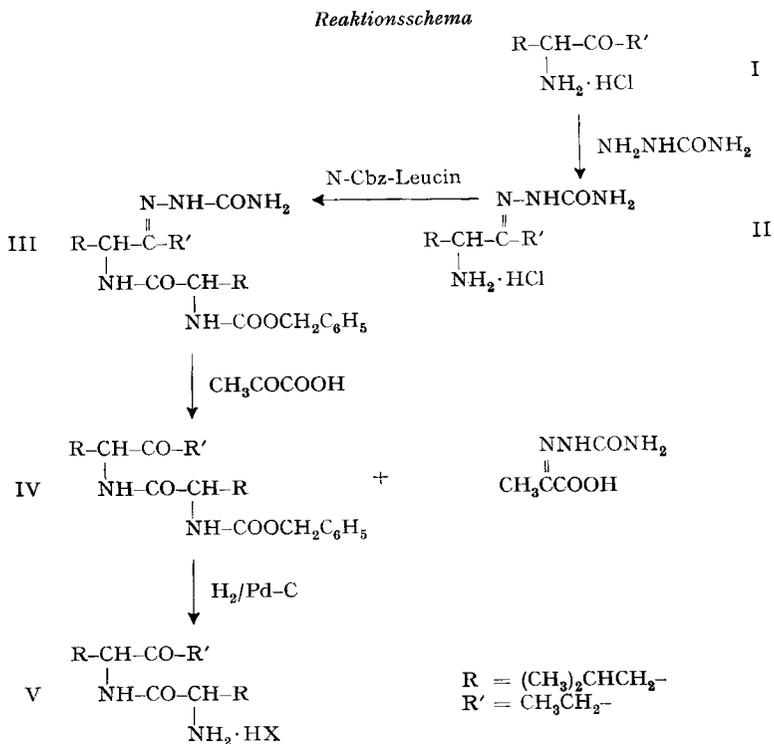
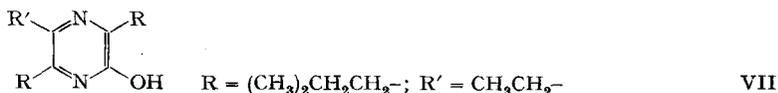


Fig. 1. UV.-Spektren von 10^{-4}M 4-(N-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanon-hydrochlorid (V): in 2N HCl (1); Alterung in 0,3M Pyrophosphatpuffer (pH 9,4) nach 24 Std. (2), 50 Std. (3), 80 Std. (4); Kurve (5) zeigt das Spektrum von 3,6-Diisobutyl-5-äthyl-2-hydroxy-pyrazin (VII) $8 \cdot 10^{-5}\text{M}$ in H_2O .

Fig. 1 zeigt das Absorptionsspektrum von V in 2N HCl (Kurve 1) und den Verlauf der Autoxydation in 0,3M Diphosphatpuffer über mehrere Tage (Kurven 2–4). Kurve 5 zeigt den Absorptionsverlauf von 3,6-Diisobutyl-5-äthyl-2-hydroxy-pyrazin (VII), das durch mehrstündige Luftoxydation von V in 2N NaOH gewonnen wurde.



Die gefundenen Absorptionsmaxima bei 220 nm ($\log \epsilon = 3,97$) und 330 nm ($\log \epsilon = 3,71$) stimmen überein mit den für eine ähnlich substituierte Verbindung (VII, $\text{R}' = \text{H}$) gefundenen Werten [7]; die Maxima liegen dort bei 228,5 nm ($\log \epsilon = 3,98$) bzw. 322 nm ($\log \epsilon = 4$).

Zur Verfolgung der H_2O_2 -Freisetzung bei der Autoxydation wurden jeweils $2 \cdot 10^{-3}\text{M}$ Lösungen von V in $5 \cdot 10^{-2}\text{M}$ 2,6-Lutidinpuffer ($\text{pH} = 7,0$) im Thermostaten bei $37,5^\circ$ inkubiert. In bestimmten Zeitabständen wurde 1,0 ml der Reaktionslösung entnommen, mit 2,0 ml $5 \cdot 10^{-3}\text{M}$ Titansulfatlösung versetzt und spektrophotometrisch bei 410 nm ausgewertet (Fig. 2).

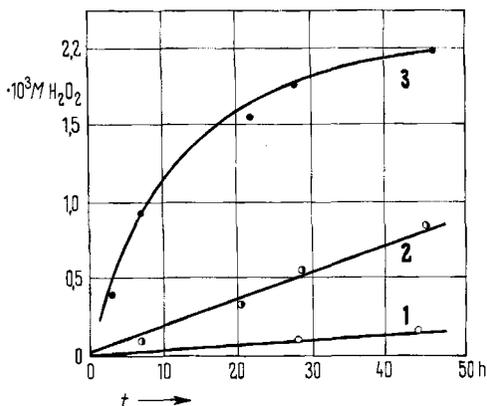


Fig. 2. H_2O_2 -Bildung bei der Autoxydation von $2 \cdot 10^{-3}\text{M}$ 4-(N-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanonhydrochlorid (V) in $5 \cdot 10^{-2}\text{M}$ 2,6-Lutidinpuffer ($\text{pH} 7,0$):

ohne Zusatz (1); $+10^{-5}\text{M}$ MnSO_4 (2); $+10^{-5}\text{M}$ $\text{MnSO}_4 + 10^{-3}\text{M}$ $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (3).

Wie aus Fig. 2 hervorgeht, werden im nicht-katalysierten Ansatz nach 45 Std. erst etwa 7% der theoretisch möglichen Menge an H_2O_2 gefunden. Zusatz von 10^{-5}M MnSO_4 steigert die Ausbeute nach dieser Zeit auf 44%, während 10^{-5}M MnSO_4 unter Zusatz von 10^{-3}M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ quantitativ H_2O_2 freisetzt. Dieses Katalysatorsystem hatte sich schon bei der Autoxydation von Methylhydrazin-Derivaten [8] als sehr wirksam erwiesen [5] [9].

Über die Ergebnisse der biologischen Prüfung der Verbindung V soll später berichtet werden.

Experimentelles. – 4-Amino-6-methyl-3-heptanon-semicarbazon (II): 5 g I [1], 5,7 g Semicarbazid · HCl und 3 g Na-Acetat wurden in 40 ml Wasser heiss gelöst. Nach 2 Std. wurde mit Eis gekühlt: 5,1 g (72,6%) II, in farblosen Kristallen vom Smp. $193\text{--}195^\circ$.

4-(*N*-Cbz-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanon-semicarbazon (III): Die Peptidbindung wurde nach einem Verfahren von VAUGHAN [10] geknüpft. Zu 10 g *N*-Cbz-DL-Leucin und 24 g Triäthylamin in 360 ml Toluol tropft man bei -5° unter Rühren 5,4 g Chlorameisensäureester und hält weitere 10 Min. auf -5° . Dann setzt man rasch 10 g II zu, bringt zum Sieden und kühlt rasch ab. Es wird zur Trockne eingengt und der Rückstand dreimal mit je 300 ml Essigester extrahiert. Trocken des Extraktes über Na_2SO_4 und Eindampfen ergibt 14,2 g öliges Rohprodukt; aus Essigester-Petroläther 12,2 g (61%) III in farblosen Kristallen vom Smp. 154–157°.

4-(*N*-Cbz-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanon (IV): 12 g III, 6 g Brenztraubensäure, 180 ml Wasser und 120 ml Äthanol wurden 10 Min. bei 80–90° geschüttelt. Nach vorsichtiger Zugabe von Wasser zum heissen Gemisch waren nach 24 Std. 8,3 g (79,5%) IV als klebrige, schlecht kristallisierte Masse abgeschieden, die jedoch nach Trocknen über P_2O_5 schon analysenrein war. Smp. 103–105°.

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{N}_2$ Ber. C 67,66 H 8,78 N 7,17% Gef. C 67,69 H 8,87 N 7,31%

4-(*N*-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanon (V): 2 g IV wurden in 10 ml Eisessig gelöst und mit 10 ml 33-proz. HBr in Eisessig versetzt. Nach 10 Min. wurde mehrmals ausgeäthert (Ätherphase verworfen). Nach Einengen und Trocknen über P_2O_5 wurde in nahezu quantitativer Ausbeute ein bräunlich gefärbtes, äusserst hygroscopisches Produkt erhalten, das nicht kristallisierte.

$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{N}_2 \cdot \text{HBr}$ Ber. C 49,85 H 8,67 N 8,31 Br 23,69%
Gef. „ 49,3 „ 8,2 „ 8,1 „ 22,3 %

Die Abspaltung der Schutzgruppe mit $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ in Äthanol/HCl verlief sehr langsam (4 Tage) und ergab ebenfalls kein kristallisierbares Produkt.

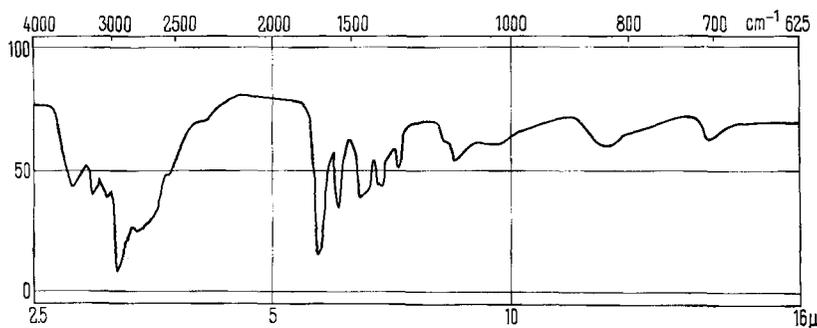


Fig. 3. IR.-Spektrum von 4-(*N*-Leucylamino)-6-methyl-3-heptanon-hydrochlorid (V) (1 mg V und 300 mg KBr)

Der Firma HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, gilt unser Dank für die Unterstützung dieser Arbeit. Dem mikroanalytischen Laboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT (Dr. W. PADOWETZ) danken wir für die Durchführung der Elementaranalysen. Herrn A. TALOS sind wir für sorgfältige Hilfe bei der experimentellen Durchführung der Arbeit und den Herren Dres. H. BRINTZINGER und B. PRIJS für ihr Interesse an dieser Arbeit dankbar.

SUMMARY

It is shown that during the autoxidation of a dihydropyrazine, formed by intramolecular cyclisation of the α -acylaminoketone $\text{R-CH}(\text{COR}')\text{-NH-CO-CH}(\text{R})\text{-NH}_2$ ($\text{R}' = (\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{-}$, $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{-}$), evolution of H_2O_2 is strongly catalysed by Mn diphosphate complexes.

Institut für Anorganische Chemie,
Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. ERLÉNMEYER & F. E. LEHMANN, *Experientia* **12**, 472 (1949); F. E. LEHMANN, A. BRETCHEER, H. KÜHNE, E. SORKIN, M. ERNE & H. ERLÉNMEYER, *Helv.* **33**, 1217 (1950).
 [2] F. E. LEHMANN, R. WEBER, H. AEBI, J. BÄUMLER & H. ERLÉNMEYER, *Helv. physiol. Acta* **12**, 147 (1954).
 [3] R. ZELL, H. BRINTZINGER, B. PRIJS & H. ERLÉNMEYER, *Experientia* **20**, 117 (1964).
 [4] H. ERLÉNMEYER, R. ZELL, H. BRINTZINGER & B. PRIJS, *Helv.* **47**, 792 (1964).
 [5] R. ZELL, Diss. Basel 1965.
 [6] P. STRÄULI, *Oncologia* **12**, 143 (1959).
 [7] G. T. NEWBOLD & F. S. SPRING, *J. chem. Soc.* **1947**, 373.
 [8] K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, A. KAISER & A. LANGEMANN, *Experientia* **19**, 132 (1963); K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, P. ZELLER, A. KAISER & A. LANGEMANN, *Helv.* **46**, 2157 (1963).
 [9] H. ERLÉNMEYER, R. ZELL, H. BRINTZINGER & B. PRIJS, *Helv.* **47**, 876 (1964); H. BRINTZINGER, R. ZELL & H. ERLÉNMEYER, *Helv.* **47**, 1642 (1964).
 [10] J. R. VAUGHAN JR., *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 6137 (1952).

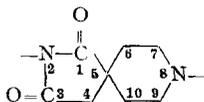
127. Substituierte 2,8-Diazaspiro[4,5]decan-1,3-dione

Untersuchungen über synthetische Arzneimittel, 16. Mitteilung [1]

von E. Jucker und R. Süess

(12. II. 66)

1. Einleitung. – In der 6. Mitteilung dieser Reihe [2] beschrieben wir die Synthese und die Eigenschaften einer Gruppe neuartiger Spiropiperidinsuccinimide:



Da einige ihrer Vertreter interessante physiologische Wirkungen besitzen, führten wir diese Untersuchungen weiter und haben seither eine Anzahl von Verbindungen synthetisiert, die an C-4, C-6 und C-7 substituiert sind. In der vorliegenden Arbeit wird über diese Untersuchungen und über einige unerwartete Reaktionen berichtet.

2. (C-4)-substituierte 2,8-Diazaspiro[4,5]decan-1,3-dione. – 2.1. *4-Alkyl- und 4-Aralkyl-2,8-diazaspiro[4,5]decan-1,3-dione.* Das Formelschema 1 zeigt den Weg, auf welchem wir unsere 2,8-Diazaspiro[4,5]decan-1,3-dione mit Alkyl- oder Aralkyl-Substituenten in Stellung 4 herstellten. Diese Synthese lehnt sich eng an den früher beschrittenen Weg an, auf dem man die unsubstituierten Succinimide VI, $R^3 = H$, nach Formelschema 1 – sinngemäss unter Auslassung der Alkylierungsstufe III \rightarrow IV – erhalten hatte.

Da die Synthese der am C-4 substituierten Spiroverbindungen nach Schema 1 eine Alkylierung mit Alkylhalogeniden in sich schliesst, wählten wir als Ausgangsprodukt N-Benzoylpiperidon-(4) (I, $R^1 = COC_6H_5$). Basische Ketone wie N-Methyl- oder N-Benzyl-piperidon-(4) schienen uns als Ausgangsmaterial wenig geeignet, da damit zu rechnen ist, dass das basische Stickstoffatom des Piperidins bei der Behandlung mit Alkylhalogeniden ebenfalls in Mitleidenschaft gezogen wird.