

Aus dem organisch-chemischen Laboratorium der Technischen Universität,
Kopenhagen

Über die Pyrazolbildung bei der Reaktion zwischen β -Diketonen und elektronegativ substituierten Phenylhydrazinen

Von

STIG VEIBEL, A. K. DHAMON und INGER GRETE KROGH ANDERSEN

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 8. Oktober 1963)

Es ist seit langem bekannt, daß Phenylhydrazin sich mit β -Diketonen unter Bildung von 1,3,5-trisubstituierten Pyrazolen kondensiert, während dasselbe Reagens mit α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen Phenylhydrazone bildet, die unter geeigneten Reaktionsbedingungen (z. B. Kochen mit Eisessig) einen Ringschluß zu 1,3,5-trisubstituierten Δ^2 -Pyrazolinen erleiden. Unlängst haben CURTIS, HASSAL u. WEATHERSTON² gezeigt, daß mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin als Reagens keine Pyrazolinbildung stattfindet, welcher Befund von CHAMBERS u. WILLARD¹ bestätigt wurde. Die letztgenannten Autoren haben jedoch gefunden, daß mit einigen ungesättigten aromatischen Carbonylverbindungen wie z. B. Dibenzylidenacetone eine Pyrazolinbildung hervorgerufen werden kann, wenn das 2,4-Dinitrophenylhydrazon mit Eisessig, der Bromwasserstoff enthält, gekocht wird.

STROH u. WESTPHAL³ bringen die Fähigkeit, Pyrazoline zu bilden, mit dem pK_a -Wert des als Reagens benutzten substituierten Phenylhydrazins in Verbindung, da die Tendenz der Pyrazolinbildung mit steigendem pK_a -Wert des substituierten Phenylhydrazins abnimmt.

Der eine von uns hat früher⁹ gezeigt, daß β -Diketone mit *p*-Carboxyphenylhydrazin (*p*-Hydrazinobenzoesäure) Pyrazole bilden, die aber mit 1 Mol Kristallwasser kristallisieren, so daß die Derivate dieselben Äquivalentgewichte haben wie die offenen *p*-Carboxyphenylhydrazone. Das Wasser wird bei etwa 130°C abgegeben, beim Umkristallisieren aber wieder aufgenommen. Die IR-Spektren zeigen, daß der Verlust von Wasser nicht mit einem Ringschluß verbunden ist. Auch die wasserhaltigen Präparate haben Pyrazolstruktur.

Um zu untersuchen, ob die von STROH u. WESTPHAL³ beobachtete Abhängigkeit der Ringschluß Tendenz der Phenylhydrazone von der Anwesenheit elektronegativer Substituenten im Benzolring des Phenylhydrazins auch bei den β -Diketonderivaten wiedergefunden wird, haben wir die Reaktionsprodukte von Acetylaceton und Benzoylaceton mit

p-Carboxyphenylhydrazin, m- und p-Nitrophenylhydrazin und 2,4-Dinitrophenylhydrazin hergestellt und ihre IR-Spektren verglichen. Dabei konnten wir eindeutig feststellen, daß selbst unter sehr milden Reaktionsbedingungen nur Pyrazole gebildet werden. Die für eine NH-Gruppe und eine CO-Gruppe charakteristischen Absorptionen fehlten nämlich vollkommen, d.h. es konnte keine Spur von Mono- oder Bisphenylhydrazonen nachgewiesen werden.

Überraschenderweise wurde aber gefunden, daß die Verbindung 5-Methoxypentan-2,4-dion, $\text{CH}_3\text{O} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3^*$ mit p-Nitrophenylhydrazin sowohl ein Monohydrizon als auch ein Pyrazol bildet.

Die Pyrazole, die mit den nitrosubstituierten Phenylhydrazinen entstehen, kristallisieren, wie die Analysen zeigen, ohne Kristallwasser.

Experimenteller Teil

Die beiden β -Diketone und die substituierten Phenylhydrazine waren alle Handelspräparate oder nach üblichen Methoden hergestellt. Auch zur Herstellung der Kondensationsprodukte wurden geläufige Methoden benutzt. Um eine Pyrazolbildung möglichst zu vermeiden haben wir auch das von SHINE⁷ empfohlene Lösungsmittel Diäthylenglykoldimethyläther („diglyme“) verwendet, wodurch ein Arbeiten bei Zimmertemperatur ermöglicht wurde. Auch so haben wir aber mit Acetyl- und Benzoyl-aceton nur Pyrazolderivate erhalten.

Tabelle 1
pK_a-Werte substituierter Phenylhydrazine $\text{XC}_6\text{H}_4\text{NHNH}_2$
(nach STROH u. WESTPHAL⁸)

X	pK _a
H	8,73
p-Br	8,95
m-NO ₂	9,61
p-COOH	9,87
p-NO ₂	10,06
2,4-(NO ₂) ₂	11,32

Untersuchungen von IR-Spektren 1-substituierter Pyrazole sind nur selten beschrieben^{3a}. Für 3,5-disubstituierte Pyrazole wird aber angegeben, daß die C=N-Bindung für Absorptionen im Bereich 6,21—6,32 μ , die C=C-Bindung für Absorptionen im Bereich 6,43—6,44 μ und der Pyrazolring für Absorptionen im Bereich 6,74—6,84 μ verantwortlich sind³⁻⁶, während die NH-Gruppe bei 3,02 μ und die C=O-Gruppe bei 5,85 μ absorbieren.

Die IR-Spektren der von uns hergestellten Pyrazole (und zum Vergleich auch das Spektrum des 1,3,5-Trimethylpyrazols) wurden mit dem Infracord (Perkin-Elmer) und der KBr-Platten-Technik aufgenommen. Nur für das 1,3,5-Trimethylpyrazol haben wir das Spektrum mit Tetrachlorkohlenstoff- und Schwefelkohlenstofflösungen der Substanz aufgenommen, weil die Flüchtigkeit der Substanz zu groß ist, um die Verwendung der KBr-Platten-Technik zu erlauben.

Die Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengestellt. Man sieht, daß alle untersuchten Substanzen sehr ähnliche Absorptionen aufweisen. Im

* Diese Verbindung wurde in anderem Zusammenhang von Herrn S. ROSENDAL JENSEN synthetisiert. Wir möchten auch hier unseren Dank für die Erlaubnis zur Einbeziehung des erwähnten Befundes in diese Mitteilung aussprechen.

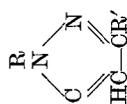


Tabelle 2. IR-Spektren verschiedener Pyrazole R', R''

R = m-O ₂ NC ₆ H ₄ R' = CH ₃ R'' = CH ₃	m-O ₂ NC ₆ H ₄ CH ₃ C ₆ H ₅	p-HOOCCH ₃ CH ₃ C ₆ H ₅	p-HOOCCH ₃ CH ₃ C ₆ H ₅	p-HOOCCH ₃ CH ₃ C ₆ H ₅	p-O ₂ NC ₆ H ₄ CH ₃ C ₆ H ₅	p-O ₂ NC ₆ H ₄ CH ₃ C ₆ H ₅	p-O ₂ NC ₆ H ₄ CH ₃ CH ₂ COCH ₃	2,4-(O ₂ N) ₂ C ₆ H ₃ CH ₃ C ₆ H ₅	2,4-(O ₂ N) ₂ C ₆ H ₃ CH ₃ C ₆ H ₅	CH ₃ CH ₃ CH ₃
96—98°C	113—114°C	157—159°C	159—160°C	103,5—104,5°C	103—104°C	78—79,5°C	124—125°C	129—130°C	36—37°C	
C ^o / _o ber. gef.	68,80 68,80			60,32 60,75	68,80 68,32	58,29 57,80	50,38 50,20	59,26 59,25		
H ^o / _o ber.	5,11 4,77			5,11 5,20	4,69 4,54	5,30 5,10	3,84 3,73	3,73 3,77		
N ^o / _o ber. gef.	19,35 19,38	15,22		19,35 19,34	15,05 14,97	17,00 16,78	21,36 21,22	17,30 17,24		
Absorptionen in μ										
	6,20 m 6,30 w	6,22 m 6,32 vw 6,38 vw	6,21 s 6,31 vw	6,22 s 6,30 sh	6,21 sh 6,28 s	6,22 sh 6,29 s	6,21 s	6,22 s	6,30 sh	
	6,40 s 6,51 s	6,46 m 6,52 s	6,43 m	6,47 m	6,42 m	6,41 m	6,40 sh 6,53 s	6,40 sh 6,51 s	6,42 s	
	6,71 m 6,84 vw 6,95 vw	6,70 m 6,79 m 6,92 m	6,61 s 6,80 sh 6,95 m	6,61 s 6,70 m 6,94 m	6,61 s 6,67 sh	6,60 s 6,68 sh	6,69 m 6,85 sh	6,68 m 6,86 sh	6,60 sh 6,71 w 6,85 m	
	7,10 m 7,30 m	7,12 m 7,31 m	7,08 s 7,28 s	7,10 m 7,29 s	6,95 m 7,11 m	6,98 m 7,10 w	6,97 m 7,10 w	6,95 m 7,11 m	6,95 w 7,10 m	
	7,42 s	7,40 sh 7,48 s	7,33 sh	7,38 m	7,42 sh 7,51 s	7,37 m 7,49 s	7,25 m	7,29 sh	7,28 s 7,31 sh	

Gegensatz hierzu haben wir für das offene Mono-p-nitrophenylhydrazon des 5-Methoxypentan-2,4-dions Absorptionen bei $3,02 \mu$ (NH) und bei $5,85 \mu$ (C=O), dagegen keine Absorption bei $6,43-6,44 \mu$ (C=C) gefunden.

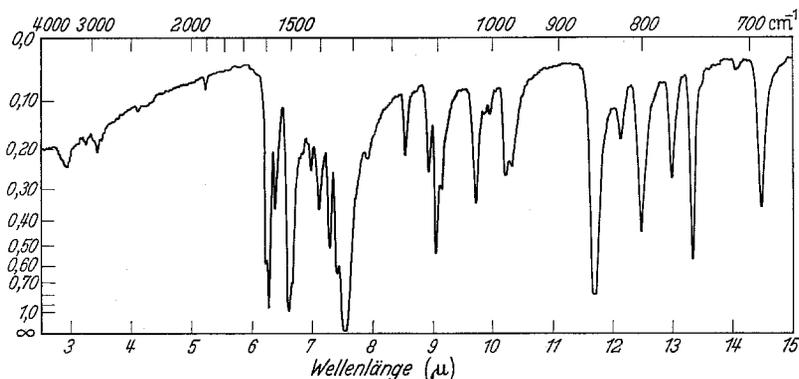


Abb. 1. IR-Spektrum von 1-p-Nitrophenyl-3,5-dimethylpyrazol

Als Beispiel der Spektren ist das ganze Spektrum des 1-p-Nitrophenyl-3,5-dimethylpyrazols in Abb. 1 wiedergegeben.

Zusammenfassung

Acetylaceton und Benzoylaceton bilden mit elektronegativ substituierten Phenylhydrazinen, selbst mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin, und selbst wenn die Reaktion bei Zimmertemperatur durchgeführt wird, 1,3,5-trisubstituierte Pyrazole ohne nachweisbare Mengen von Zwischenprodukten (Monophenylhydrazone).

5-Methoxypentan-2,4-dion bildet mit p-Nitrophenylhydrazin bei Zimmertemperatur ein Monophenylhydrazon. Bei höherer Temperatur wird aber auch hier das entsprechende Pyrazol gebildet.

Summary

Acetylacetone and benzoylaceton react with electro-negatively substituted phenylhydrazines to form 1,3,5-trisubstituted pyrazoles, also with 2,4-dinitrophenylhydrazine and even if the reaction is performed at room temperature. There are no detectable quantities of intermediate products (monophenylhydrazones).

5-Methoxypentane-2,4-dione is forming with p-nitrophenylhydrazine at room temperature a monophenylhydrazone, but at higher temperature the corresponding pyrazole is also formed.

Wir möchten nicht unterlassen, dem Carlsbergfond unseren Dank für eine finanzielle Unterstützung auszusprechen.

Literatur

- ¹ CHAMBERS, W. L., and M. L. WILLARD: J. Amer. chem. Soc. **82**, 3373 (1960). —
² CURTIS, R. F., C. H. HASSAL and J. WEATHERSTON: J. chem. Soc. (London) **1962**, 3831. — ³ HAUSER, C. S., and C. E. CAIN: J. org. Chemistry **23**, 1142 (1958). —
^{3a} KHAN, M. A., B. M. LYNCH and Y.-Y. HUNG: Canad. J. Chem. **41**, 1540 (1963). —
⁴ MIRONE, P., e M. VAMPIRI: Atti Accad. naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. fis. mat. nat. **12**, 583 (1952). — ⁵ RIED, W., u. P. PFAENDER: Liebigs Ann. Chem. **640**, 111 (1961). — ⁶ RONDESTVEDT, C. S., jr., and P. K. CHANG: J. Amer. chem. Soc. **77**, 6532 (1955). — ⁷ SHINE, H. J.: J. org. Chemistry **24**, 252, 1790 (1959). — ⁸ STROH, H. H., u. G. WESTPHAL: Chem. Ber. **96**, 184 (1963); **97**, 23 (1964). — ⁹ VEIBEL, S., B. JUHL NIELSEN, and S. REFN: Acta chem. scand. **12**, 934 (1958).

Prof. STIG VEIBEL,
Technische Universität, Organisch-chemisches Laboratorium,
Kopenhagen, Sølvgade 83 (Dänemark)

Aus den Farbwerken Hoechst AG. vormals Meister Lucius & Brüning
Frankfurt (Main)-Höchst

Über die Adsorption radioaktiv markierter Eiweiße an Papierelektropherogrammen

Von
E. NIEMANN und W. HOFFMANN

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. Dezember 1963)

Jod-¹³¹J-markierte und Chrom-⁵¹Cr-markierte Eiweiße haben in der biochemischen und medizinischen Forschung eine weitreichende Anwendung gefunden und werden inzwischen auch in der inneren Medizin als diagnostische Hilfsmittel eingesetzt. In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Herstellung dieser Präparate beschrieben^{1,4,6,11,13,16}. Im Einzelfall ist das für ein bestimmtes Eiweiß unter Berücksichtigung der biologischen Aktivität schonendste Verfahren für die radioaktive Markierung zu wählen. Dabei lassen sich für Jod-131 spezifische Aktivitäten bis zu 10 mC ¹³¹J/mg Substanz ohne Denaturierung der Proteine erreichen. Die spezifischen Aktivitäten für Chrom-⁵¹Cr-markierte Eiweiße liegen niedriger, da Chrom-51 nicht als trägerfreies Nuclid zur Verfügung steht.

Im Rahmen der mit ¹³¹J- und ⁵¹Cr-markierten Eiweißen ausgeführten Arbeiten sind elektrophoretische Untersuchungen von großem Wert. Sowohl die Reinheitsprüfungen der Präparate als auch die Auswertung von Versuchen können mit Hilfe der Papierelektrophorese erfolgen. Hierbei müssen die an den Papieren auftretenden Adsorptionseffekte der Eiweiße besondere Beachtung finden. Schon bei Untersuchungen von