

Die Eisessig-Mutterlauge wurde i. Vak. eingeengt, wobei gegen Ende Ammoniumacetat im Kühler auskristallisierte. Der Rückstand erstarrte beim Erkalten; er wurde mit wenig kaltem Alkohol angerührt und das Ungelöste zweimal aus Alkohol umkristallisiert. Das 4,5-Di-[pyridyl-(2)]-imidazon-(2) (Ia) stellt crème-farbige, perlmuttglänzende Nadelchen dar, die im UV-Licht hellblau fluorescieren. Schmp. 241,5°, Ausb. 2 g.

$C_{13}H_{10}ON_4$  (238.2) Ber. C 65.53 H 4.23 N 23.52 Gef. C 65.36 H 4.50 N 23.38

Erwärmt man das Imidazon Ia bis zur Lösung mit verd. Salzsäure, so scheidet sich beim Erkalten das Hydrochlorid in gelben Nadeln ab, die zwischen 280–300° verkohlen. Das Hydrochlorid fluoresciert unter der Quarzlampe gelb. Zur Analyse wurde aus verd. Salzsäure umkristallisiert.

$C_{13}H_{10}ON_4 \cdot HCl$  (274.7) Ber. Cl 12.91 Gef. Cl 12.42

2. Kondensation mit 6,6'-Dimethyl- $\alpha$ -pyridoin: 25 g 6,6'-Dimethyl- $\alpha$ -pyridoin wurden wie das  $\alpha$ -Pyridoin mit 13 g Harnstoff umgesetzt. Beim Stehenlassen über Nacht fiel nichts aus. Der Ansatz wurde mit 2 n  $Na_2CO_3$  versetzt, bis sich neben der ausfallenden Substanz ein Harz abzuscheiden begann. Die zunächst ausgefallene Substanz lieferte nach dreimaligem Umkristallisieren aus Alkohol orange-rote Quader vom Schmp. 166°, die nicht weiter untersucht wurden.

Die Reaktionslösung wurde weiter mit Natriumcarbonatlösung versetzt und das reichlich abgeschiedene Harz mit Natriumcarbonatlösung verrieben, bis es erstarrte. Dann wurde viermal mit je 80 ccm Benzol ausgekocht und der Rückstand in 60 ccm heißem Alkohol aufgenommen, aus dem sich beim Erkalten crème-farbige Kristalle abschieden. Das 4,5-Bis-[6-methyl-pyridyl-(2)]-imidazon-(2) (Ib) schmolz, aus Alkohol umkristallisiert, bei 235° und fluorescierte im UV-Licht blauviolett.

$C_{15}H_{14}ON_4$  (266.3) Ber. C 67.65 H 5.30 N 21.04 Gef. C 67.38 H 5.42 N 20.71

Beim Erkalten des ersten Benzolextrakts (80 ccm) schied sich das 4,5-Bis-[6-methyl-pyridyl-(2)]-oxazon-(2) (IIb) in roten Nadeln ab. Zur Analyse wurde aus Benzol umkristallisiert. Schmp. 158°. Es fluorescierte wie IIa unter der UV-Lampe nicht.

$C_{15}H_{13}O_2N_3$  (267.3) Ber. C 67.40 H 4.90 N 15.72 Gef. C 66.57 H 4.85 N 15.56

## FRIEDHELM KORTE UND HANS BARKEMEYER

### Heterocyclen im Stoffwechsel, II<sup>1)</sup>

## DIE SYNTHESE VON CYANESSIGSÄURE-METHYLESTER-[3-<sup>14</sup>C]

Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 28. Dezember 1956)

Es wird eine neue Mikrosynthese für Cyanessigsäure-methylester-[3-<sup>14</sup>C] sowie seine kolorimetrische Bestimmung mit *m*-Dinitro-benzol im Reaktionsgemisch beschrieben.

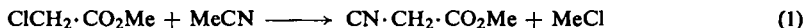
Für die Synthese <sup>14</sup>C-markierter Purine und Pteridine benötigten wir Cyanessigester-[3-<sup>14</sup>C]<sup>1)</sup>. In neuerer Zeit beschrieben E. L. BENNETT<sup>2)</sup> sowie TH. WIELAND und Mitarbb.<sup>3)</sup> entsprechende Verfahren, wobei jedoch der Cyanessigester-[3-<sup>14</sup>C] gleich

1) I. Mitteil.: F. KORTE und H. BARKEMEYER, Chem. Ber. **89**, 2400 [1956].

2) J. Amer. chem. Soc. **74**, 2420 [1952]. 3) Biochem. Z. **327**, 85 [1955].

weiter verarbeitet wurde. Wir interessierten uns für ein Mikrosyntheseverfahren, das bei guten Ausbeuten und leichter Handhabung ein möglichst reines Endprodukt liefert. Um ein allgemeines Verfahren zu erhalten, sollte der Gehalt an Cyanessigester-[3-<sup>14</sup>C] im Endprodukt leicht quantitativ bestimmbar sein.

Die Mehrzahl aller Cyanessigester-Synthesen erfolgt nach dem Schema:



Die Veresterung kleiner Cyanessigsäuremengen ist umständlich und verlustreich, wenn sie nach dem klassischen Verfahren mit Alkohol und Mineralsäure durchgeführt wird. Versuche, die Stufe der Veresterung durch Einsatz von Chloressigester<sup>4)</sup> einzusparen, verliefen trotz vielfach variierten Versuchsbedingungen unbefriedigend, da die Ausbeuten (bezogen auf KCN) kaum mehr als 50% d. Th. betrugen. Die Ausbeuteverluste sind auf Selbstkondensation des Cyanessigesters im wäßrig-alkoholisch-alkalischen Reaktionsmilieu zurückzuführen. Versuche zur Veresterung von Cyanessigsäure mit Dimethylsulfat<sup>5)</sup> im wäßrig-alkalischen Milieu verliefen negativ. Dagegen gelingt die Umsetzung in nahezu quantitativer Ausbeute durch Verwendung des wasserfreien K-Salzes der Cyanessigsäure<sup>6)</sup>.



Die Synthese des Cyanessigsäure-methylesters in der von uns beschriebenen Weise hat den Vorzug guter Ausbeuten (85–90%) und großer Einfachheit, da alle Reaktionen in demselben Gefäß ausgeführt werden (Zentrifugenglas). In den meisten Fällen wird man den Cyanessigsäure-methylester im Reaktionsgemisch gleich weiter verarbeiten können. Die Isolierung ist jedoch bis zu einem Reinheitsgrad von 70–80% möglich, wenn man durch Ätherextraktion von anorganischen Salzen trennt. Unter den angewandten Bedingungen wird Dimethylsulfat quantitativ zerstört. Als Verunreinigungen sind nur geringe Mengen Chloressigsäure-methylester bzw. Spuren von Kondensationsprodukten des Cyanessigsäure-methylesters vorhanden, die die weiteren Reaktionen aber nicht stören.

Um das Verfahren allgemein verwendbar zu machen, wurde eine Methode zur quantitativen Bestimmung des gebildeten Cyanessigesters auf kolorimetrischem Wege entwickelt.

*m*-Dinitro-benzol reagiert wie mit Aceton<sup>7)</sup>, so auch mit Cyanessigester in Alkal unter Rotfärbung. Unter den angewandten Bedingungen ist das Beersche Gesetz erfüllt, Cyanessigsäure und Chloressigester geben keine Farbreaktion. Die Farbintensität ist über 3 Stdn. konstant und wird im Photometer „Eppendorf“ bei 436m $\mu$  oder im Spektralphotometer gemessen.  $\lambda_{\text{max}}$  500m $\mu$ , Fehlergrenze  $\pm 1.5\%$ . Die bei mehreren Versuchen bestimmte Ausbeute beträgt 85–90% Cyanessigsäure-methylester (bezogen auf KCN).

Die Weiterverarbeitung auf 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin erfolgt wie früher angegeben<sup>1)</sup>. Es ist jedoch erforderlich, die Na-Methylatmenge um das 1.7-fache zu erhöhen, da

<sup>4)</sup> O. C. STEPHENS, J. Soc. chem. Ind. 43, T 313–14, 327–28, [1924]; C. 1925 I, 357.

<sup>5)</sup> A. WERNER und W. SEYBOLD, Ber. dtsh. chem. Ges. 37, 3658 [1904].

<sup>6)</sup> A. KLEMENC, Mh. Chem. 38, 563 [1917].

<sup>7)</sup> I. ANTENER, Z. analyt. Chem. 116, 442 [1939].

dieses mit dem überschüssigen Chloressigester reagiert. Die Ausbeute an 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-[4-<sup>14</sup>C] beträgt 59% (bezogen auf KCN). Legt man für die Reaktionsfolge Cyanessigester-Pyrimidin einen Ausbeutewert von 70% zugrunde<sup>1)</sup>, so ergibt sich in Übereinstimmung mit dem kolorimetrisch ermittelten Wert für die Synthese des Cyanessigsäure-methylesters eine Ausbeute von 85% d. Th. (bezogen auf KCN).

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danken wir auch an dieser Stelle für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*Kalium-cyano-acetat*-[3-<sup>14</sup>C]: Die Reaktion gemäß Gleichung (1) muß im alkalischen Milieu vorgenommen werden.

16.69 g *Chloressigsäure* in ca. 30 ccm Wasser werden mit 13.05 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> versetzt. Man verdünnt im Meßkolben auf 50 ccm, gibt 0.105 ccm dieser Lösung zu 21.5 mg K<sup>14</sup>CN (98-proz., spezif. Akt. 1.5 mC/mMol), die sich in einem 10-ccm-Zentrifugenglas mit Schliff befinden, erwärmt 40 Min. im Wasserbad auf 95–100° und bringt das nach einigen Min. ausgefallene KCl durch einige Tropfen Wasser wieder in Lösung. Nach beendeter Reaktion versetzt man zur Entfernung des Wassers zweimal mit je 1–2 ccm Methanol und vertreibt die Flüssigkeit durch einen schwachen N<sub>2</sub>-Strom bei geöffnetem Einfüllstutzen der Apparatur<sup>1)</sup>. Trocknung über Nacht i. Vak. über konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Äquivalenz-Verhältnis  $\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{H} : \text{K}_2\text{CO}_3 = 1 : 1.07$

Mol.-Verhältnis  $\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{H} : \text{K}^{14}\text{CN} = 1.16 : 1$

*Cyanessigsäure-methylester*-[3-<sup>14</sup>C]: Das in der oben beschriebenen Weise erhaltene Salzgemisch wird mit 0.06 ccm *Dimethylsulfat* und 0.15 ccm Dioxan 60 Min. auf 95–100° im Wasserbad erhitzt. Ausb. 28.8 mg <sup>14</sup>CN·CH<sub>2</sub>·CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (90% d. Th.). Das Reaktionsgemisch A kann direkt weiterverarbeitet werden auf

*2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat-monohydrat*-[4-<sup>14</sup>C]: Dem Reaktionsgemisch A aus der vorigen Umsetzung werden 47.1 mg *Guanidin-nitrat*, 1.7 ccm CH<sub>3</sub>ONa-Lösg.<sup>1)</sup> und 1 ccm Methanol zugesetzt. Weiterverarbeitung wie früher angegeben<sup>1)</sup>. Ausb. 50–51 mg C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>ON<sub>5</sub>·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (59% d. Th., bezogen auf K<sup>14</sup>CN).

*Isolierung des Cyanessigsäure-methylesters*-[3-<sup>14</sup>C]: Zur Zerstörung des überschüss. Dimethylsulfats wird das Reaktionsgemisch A in 1 ccm Wasser gelöst und unter leichtem Schütteln auf 30–35° erwärmt. Nach 30–60 Min. wird 7–8 mal mit je 5 ccm Äther ausgeschüttelt und das Lösungsmittel nach Trocknen über frisch geglühtem Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sehr langsam über eine Kolonne abdestilliert. Nach 6 stdg. Stehenlassen über konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> erhält man 35–40 mg Rückstand mit einem Gehalt von 28 mg *Cyanessigsäure-methylester*-[3-<sup>14</sup>C]. Das entspricht einem Reinheitsgrad von 70–80%. Eine weitere Reinigung hat sich nicht als notwendig erwiesen.

### Kolorimetrische Gehaltsbestimmung

*Lösungen:* 1. *m*-Dinitro-benzol in CH<sub>3</sub>OH (3.4 g in 100 ccm).

2. CH<sub>3</sub>ONa in CH<sub>3</sub>OH (6.1–6.2 g Na in 100 ccm Lösung).

3. Standardlösung (1 mMol Cyanessigsäure-methyl- oder äthylester in 100 ccm Methanol-lösung).

*Ausführung der Bestimmung:* 0.2 ccm Lösung 1 werden im Reagenzglas vorgelegt, 0.05 ccm Standardlösung hinzupipettiert und sofort 1.0 ccm Lösung 2 zugesetzt. Nach 10–20 Min. verdünnt man mit 4.0 ccm Methanol und verschließt die Gläser, um Verdampfungsverluste

zu vermeiden. Die Messung im Photometer-Eppendorf erfolgt bei 436 m $\mu$  und 10 mm Schichtdicke 150–300 Min. nach dem letzten Methanolzusatz. Das Absorptionsmaximum beträgt  $\lambda_{\max} = 500 \text{ m}\mu$ . (Wird die Farbintensität bei dieser Wellenlänge im Spektralphotometer ausgemessen, so empfiehlt es sich, wegen der höheren Extinktionswerte nur 50 % der angegebenen Cyanessigestermenge einzusetzen.) Durch Einstellen der Gläser in ein Wasserbad von 20° erreicht man die erforderliche Temperaturkonstanz. Es wird gegen eine Blindprobe kolorimetriert (gleiche Reagensmengen, gleiche Entwicklungszeit). Der Extinktionswert der Standardlösung beträgt  $\lg \frac{I_0}{I} \cdot 0.60 - 0.70$ . Fehlergrenze  $\pm 1.5\%$ .

**Bestimmung im Reaktionsgemisch:** Das im Schliffzentrifugenglas befindliche Reaktionsgemisch wird mit 1 ccm Wasser versetzt, mit Äther erschöpfend extrahiert und mit Äther im Meßkolben auf 50 ccm verdünnt. Für die Bestimmung werden 0.05 ccm dieser Lösung eingesetzt. Es empfiehlt sich, neben dem Blindversuch gleichzeitig eine Vergleichsbestimmung mit der Standardlösung durchzuführen.

$$\text{Beispiel: } \lg \frac{I_0}{I} \text{ (Standard)} = 0.650 \quad \lg \frac{I_0}{I} \text{ (Synthese)} = 0.380$$

28.8 mg CN·CH<sub>2</sub>·CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> sind bei der Synthese entstanden, das sind 90 % d. Th.

SIEGFRIED HÜNIG und WOLFGANG BARON <sup>1)</sup>

## ABBAU QUARTÄRER AMMONIUMSALZE MIT ÄTHANOLAMIN, I

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg

(Eingegangen am 22. Dezember 1956)

Die Abspaltungsgeschwindigkeit aliphatischer Substituenten aus quartären Ammoniumsalzen wird durch Erhitzen in Äthanolamin bestimmt. Die Substituenten werden in der Reihe  $-\text{CH}_2\cdot\text{CH}:\text{CH}_2 \gg -\text{CH}_3 > -\text{CH}(\text{CH}_3)_2 > -\text{C}_2\text{H}_5, -\text{C}_3\text{H}_7 > n\text{-C}_4\text{H}_9, i\text{-C}_4\text{H}_9$  mit abnehmender Geschwindigkeit auf das Amin übertragen. Nur der besonders reaktive  $\Delta^3$ -Butenylrest wird als Olefin (Butadien) abgespalten. Die Reaktion eignet sich zur Darstellung von Alkyl- und besonders Aryl-dimethylaminen.

Der thermische Abbau quartärer Ammoniumionen zu tertiären Aminen kann bekanntlich auf zwei Wegen erfolgen:

1. Der austretende Substituent erscheint als Olefin. In Gegenwart stark basischer Anionen wie Hydroxyl oder Alkoxyl genießt diese Spaltung stets den Vorzug, falls die Substituenten überhaupt eine Olefinbildung zulassen<sup>2)</sup>. Dieses Verhalten bildet die Grundlage für den Hofmannschen „Abbau durch erschöpfende Methylierung“<sup>3)</sup>.
2. Der abzuspaltende Substituent verbindet sich mit dem Anion. Diese Alkylierungsreaktion tritt auf, wenn das quartäre Ion keine Olefinbildung zuläßt *oder* wenn nur schwach basische, aber leicht polarisierbare<sup>4)</sup> Anionen zugegen sind. Neben der

<sup>1)</sup> Dissertat. Univ. Marburg 1956.

<sup>2)</sup> Vgl. C. K. INGOLD „Structure and Mechanism in Org. Chemistry“, New York 1953, S. 919.

<sup>3)</sup> A. W. HOFMANN, Liebigs Ann. Chem. **78**, 253 [1851]; **79**, 11 [1852].

<sup>4)</sup> Über den Zusammenhang von Basizität und Polarisierbarkeit vgl. J. O. EDWARDS, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1540 [1954]; **78**, 1819 [1956].