

Organische Elektrochemie, I

Über die elektrochemische Reduktion von 2,3-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalinen und die Autoxidation der ReduktionsprodukteRaphael Gottlieb^{*)} und Wolfgang Pfeleiderer^{*}Fachbereich Chemie der Universität Konstanz,
Postfach 7733, D-7750 Konstanz

Eingegangen am 17. August 1977

Die elektrochemische Reduktion des 1-Methyl- (2) und 1,4-Dimethyl-2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalins (3) führt im sauren Medium in einer ungewöhnlichen vierelektronigen Reduktionsstufe zu 1-Methyl- (4) bzw. 1,4-Dimethyl-3-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (5), die unter Autoxidation jeweils die Ausgangsverbindungen zurückbilden. Die Mechanismen der Reduktions- und Reoxidationsprozesse werden diskutiert und experimentell belegt. Es wird gezeigt, daß bei der Autoxidation die Stufe eines 1-Methyl-3-oxo-3,4-dihydrochinoxalinium-Kations (15, 16) durchlaufen wird und der eingeführte 2-Carbonylsauerstoff aus dem Wasser stammt.

Organic Electrochemistry, I**Electrochemical Reduction of 2,3-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoxalines and Autoxidation of the Reduction Products**

The electrochemical reduction of 1-methyl- (2) and 1,4-dimethyl-2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoxaline (3) leads in acidic media in an unusual 4 electron reduction step to 1-methyl- (4) and 1,4-dimethyl-3-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoxaline (5), respectively. These compounds are converted to the starting material by autoxidation. The mechanisms of these reduction and reoxidation processes are discussed and proven experimentally. It is shown that 1-methyl-3-oxo-3,4-dihydroquinoxalinium cations (15, 16) are intermediates in the autoxidation process and that the carbonyl oxygen introduced in 2-position is derived from water.

Im Rahmen elektrochemischer Reduktionen von 6,7-Dioxo-5,6,7,8-tetrahydropteridinen^{1,2)} erwies es sich zunächst als zweckmäßig, einige Modelluntersuchungen an dem einfacheren 2,3-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin-System durchzuführen. Mit diesem Problem beschäftigte sich früher schon einmal Furlani³⁾, dessen Resultate wir aber nur zum Teil bestätigen können. Aus den polarographischen Untersuchungen des 2,3-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalins (1) sowie seines 1-Methyl- (2) und 1,4-Dimethyl-Derivates (3) wird ersichtlich, daß im sauren pH-Bereich zwischen pH 0 und 5 eine recht ungewöhnliche vierelektronige Reduktionsstufe vorherrscht, die durch das auf pH 0 extrapolierte und

^{*)} Teil der Dissertation R. Gottlieb, Univ. Konstanz 1974.

¹⁾ R. Gottlieb und W. Pfeleiderer, Chemistry and Biology of Pteridines, Ed. W. Pfeleiderer, S. 681, W. de Gruyter, Berlin, New York 1975.

²⁾ R. Gottlieb und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 111, 1763 (1978), nachstehend.

³⁾ C. Furlani, Gazz. Chim. Ital. 85, 1646 (1955).

gegen die Silber-Silberchlorid-Elektrode (SSE) gemessene Halbstufenpotential E'_0 und den Richtungskoeffizienten a der $E_{1/2}$ -pH-Abhängigkeit im Bereich $E_{1/2} = -800 - 80 \cdot \text{pH}$ (mV) charakterisiert ist (Tab. 1). Furlani's Wert für **1** liegt bei weit negativerem Potential, was vermutlich durch die Extrapolation des im neutralen pH-Bereich ermittelten Halbstufenpotentials auf pH 0 zurückzuführen ist.

An die saure Hauptstufe schließt sich dann im neutralen und alkalischen pH-Gebiet eine zweielektronige Stufe an (Abb. 1), die dem System vom elektronischen Standpunkt aus eher gerecht wird.

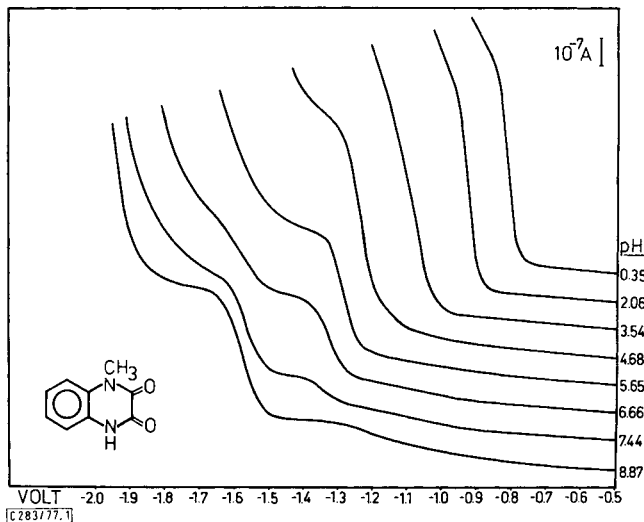


Abb. 1. Polarographische Stufen des 1-Methyl-2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalins (**2**) ($1.7 \cdot 10^{-4}$ M; 0,01% Gelatine; „5“ Imp/s; $h = 46$ cm, Empfindlichkeit $1 \cdot 10^{-8}$ A/mm; 25°C)

Tab. 1. Polarographische Daten von 2,3-Dioxotetrahydrochinoxalinen [$E_{1/2} = E'_0 - a \cdot \text{pH}$ (mV gegen SSE)]

-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin	Mol-masse	E'_0 (mV)	a (mV/pH) (pH 0–4)	E'_0 (mV)	a (mV/pH) (pH 5–8)	pK	Molekülart
2,3-Dioxo- (1)	162.1	-775	89	-1085	30	9.72	0/-
1-Methyl-2,3-dioxo- (2)	176.1	-780	76	-1115	32	9.99	0/-
1,4-Dimethyl-2,3-dioxo- (3)	190.1	-810	77	-1115	36		

Zur Klärung der strukturellen Verhältnisse des vierelektronigen Reduktionsprozesses unterwarfen wir **2** und **3** einer präparativen Elektroreduktion unter Potentialkontrolle bei pH 0 (-800 mV) und 7.6 (-1400 mV). Der coulometrisch verfolgte Fortgang der Reaktion bestätigt die quantitative Aufnahme von stets 4 Elektronen, und zwar nicht nur unter sauren, sondern auch neutralen pH-Bedingungen unter Bildung der jeweils gleichen Reaktionsprodukte **4** bzw. **5**.

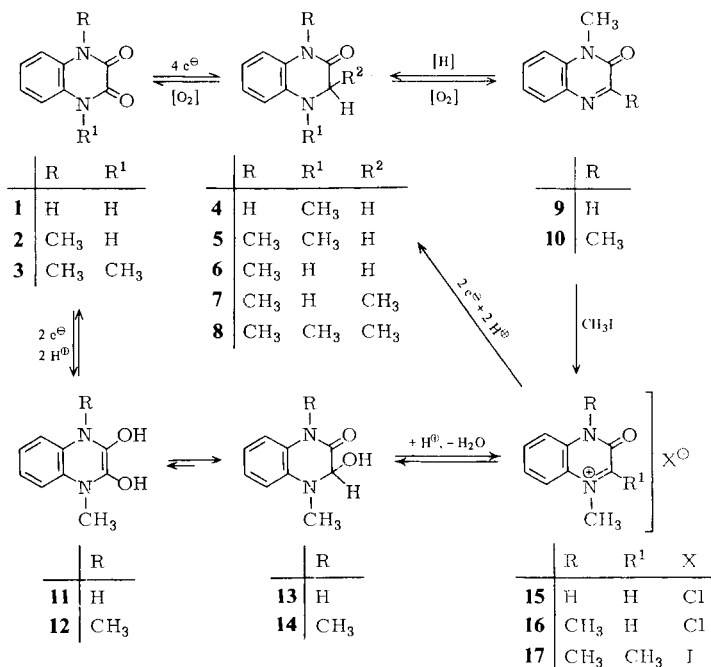
Tab. 2. Physikalische Daten von Chinoxalinen

-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin	NMR-Spektren in CDCl ₃ (δ-Werte) bzw. [D ₆]DMSO*		pK-Werte in Wasser, 20°C	UV-Absorptionsspektren		pH-Wert	Molekülart		
	NCH ₃ (3)	CH ₂ arom. CH (2)		NH (4)	λ _{max} (nm)			lg ε	
2,3-Di-oxo- (1)		7.10(m)	12.60(bs)	*	9.72 ± 0.1	228 235 257 [300] 312 [324] [343]	3.98 3.91 3.66 [3.97] 4.06 [4.00] [3.64]	7.0	0
1-Methyl-2,3-dio-oxo- (2)	3.50(s)	7.20(m)	11.62(bs)	*	9.99 ± 0.06	214 235 [242] [298] 312 324 [338] 226 [245] [262] [304] 314 327 341	4.34 3.81 [3.77] [3.59] 3.81 3.85 [3.64] 4.25 [3.85] [3.53] [3.55] 3.82 3.94 3.79	11.5	2 N NaOH
1,4-Dimethyl-2,3-dio-oxo- (3)	3.80(s) (6) 3.50(s) (6)	7.54(s) 7.33(m)			12.75 ± 0.1	232 239 258 [266] [302] 314 [328] [346] 237 [255] [300] 314 325 [340] 233 240 255 [264] [302] 314 [326] [342]	4.09 4.02 3.76 [3.72] [3.99] 4.09 [4.00] [3.69] 4.11 [3.76] [3.87] 4.09 4.13 [3.91] 4.10 4.04 3.80 [3.71] [3.98] 4.07 [4.02] [3.68]	5.0	0
1-Methyl-3-oxo- (4)	2.93(s)	3.88(s)	7.05(m)	9.50(bs)	0.25 ± 0.17 13.09 ± 0.1	222 265 297 228 285 303	4.05 [3.46] 4.52 3.51 3.51 4.52 3.74 3.74	-2.0	+
1,4-Dimethyl-2-oxo- (5)	2.92(s) 3.49(s)	3.87(s)	7.19(m)		0.25 ± 0.17	[238] 244 [273] 223 264 300	[4.03] 4.06 [3.47] 4.54 3.55 3.59	-2.0	+
1-Methyl-2-oxo- (6)	3.49(s)	4.11(s)	7.15(m)	3.84(s)		222 [260] 302	4.52 [3.40] 3.59	Methanol	0
NMR-Spektren in CCl ₄									
	NCH ₃ (3)	3-CH (1)	CCH ₃ arom. CH (4)	NH (1)					
1,3-Dimethyl-2-oxo- (7)	3.29(s)	3.83(q)	1.36(d)	6.73(m)	4.45(bs)	222 [260] 305	4.52 [3.42] 3.95	Methanol	0
1,3,4-Trimethyl-2-oxo- (8)	3.26(s) 2.78(s)	3.85(q)	1.05(d)	6.80(m)	-	225 262 308	4.56 3.50 3.61	Methanol	0

s = Singulett; bs = breites Singulett; d = Dublett; q = Quadruplett; m = Multiplett.
+ = Kation; 0 = Neutrale Molekül; - = Monoanion; -- = Dianion. [] = Schulter.

Ihre Konstitutionen basieren auf Elementaranalysen, Massen- sowie NMR-Spektren und stehen damit im Gegensatz zum Strukturvorschlag von *Furlani*³⁾, der für das Reduktionsprodukt von **3** ein 1,4-Dimethyl-2,3-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin formulierte. Die Konstitution von **4** wurde zusätzlich durch Vergleich mit 1-Methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (**6**)⁴⁾, das in bekannter Weise durch katalytische Hydrierung des 1-Methyl-2-oxo-1,2-dihydrochinoxalins (**9**) dargestellt wurde, gesichert, wobei die leichte Autoxidationsneigung von **6** zum Ausgangsprodukt **9** zurück die strukturelle Zuordnung unterstreicht.

Basierend auf diesen Resultaten bietet sich als Mechanismus für die formale Reduktion einer Carbonylfunktion in den cyclischen Diamiden **2** und **3** eine Reaktionsfolge an, die im ersten Schritt aus einem reversiblen $2e^- + 2H^{\oplus}$ -Prozeß unter Ausbildung einer Endiol-Struktur⁵⁾ (**11**, **12**) besteht und an den sich dann eine rasche Tautomerisierung zum 1-Methyl- (**13**) bzw. 1,4-Dimethyl-2-hydroxy-3-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (**14**) anschließt. Die Endiol-Bildung kann dabei als spezieller Fall der bekannten Elektroreduktion von α -Diketonen⁶⁻⁸⁾ angesehen werden, wobei es uns jedoch nicht gelungen ist, die Reversibilität durch schnellregistrierende Cyclovoltametrie (5000 mV/s) nach-



⁴⁾ S. Rossi, O. Pirola und F. Selva, *Tetrahedron* **24**, 6395 (1968).

⁵⁾ H. Lund in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Vol. 12, S. 298, Ed. A. R. Katritzky und A. J. Boulton, Academic Press, N. Y. 1970.

⁶⁾ P. Zuman und C. L. Perrin in *Organic Polarography*, S. 200, Interscience Publ., New York 1969.

⁷⁾ N. J. Leonard, H. A. Laitinen und E. H. Mottus, *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 3300 (1953); **76**, 4737 (1954).

⁸⁾ R. Pasternak, *Helv. Chim. Acta* **31**, 753 (1948).

zuweisen. Der sehr raschen Tautomerisierung zu den Pseudobasen **13** und **14** folgt dann eine Protonierung an der Hydroxylgruppe und Wasserabspaltung zu den Chinoxalinium-Kationen **15** und **16**, die in einer zweiten zweielektronigen Reduktion infolge ihres positiveren Halbstufenpotentials E'_0 um -340 mV viel leichter zu den Endprodukten **4** und **5** reagieren und sich in der Lösung nicht akkumulieren, um nachgewiesen werden zu können.

Die polarographischen Untersuchungen zeigen, daß der im sauren pH-Bereich festgestellte vierelektronige Reduktionsprozeß sehr rasch sein muß und sich sämtliche postulierten Reaktionsschritte in Elektrodennähe, d. h. an deren Oberfläche bzw. in der Diffusionsschicht, abspielen müssen. Nur so ist zu verstehen, daß eine mehrstufige Reaktionsfolge als eine polarographische Welle in Erscheinung tritt.

Im neutralen und alkalischen Medium dagegen ist sicher die Protonierung und Wasserabspaltung aus der Pseudobase bedeutend langsamer, so daß Diffusion zurück in die Reaktionslösung vor dem zweiten Reduktionsschritt stattfinden kann. Polarographisch stellt sich demnach der erste elektroaktive Prozeß in Form einer zweielektronigen Welle dar. Bei der Elektroreduktion in der präparativen Zelle wird dagegen der mehrstufige Gesamtprozeß coulometrisch im Sinne eines $4e^-$ -Verbrauchs erfaßt.

Ein weiterer wichtiger Befund ist die Feststellung, daß die Reduktion von **2** ausschließlich zu **4** und nicht zu der isomeren Verbindung **6** führt, wofür aufgrund des vorgeschlagenen Mechanismus wohl die größere thermodynamische Stabilität des intermediären Chinoxalinium-Kations **15** verantwortlich ist.

Wir haben ferner festgestellt, daß die Reduktionsprodukte **4** und **5** selbst in saurem Medium autoxidabel sind und dabei in die Ausgangsverbindungen **2** und **3** übergehen.

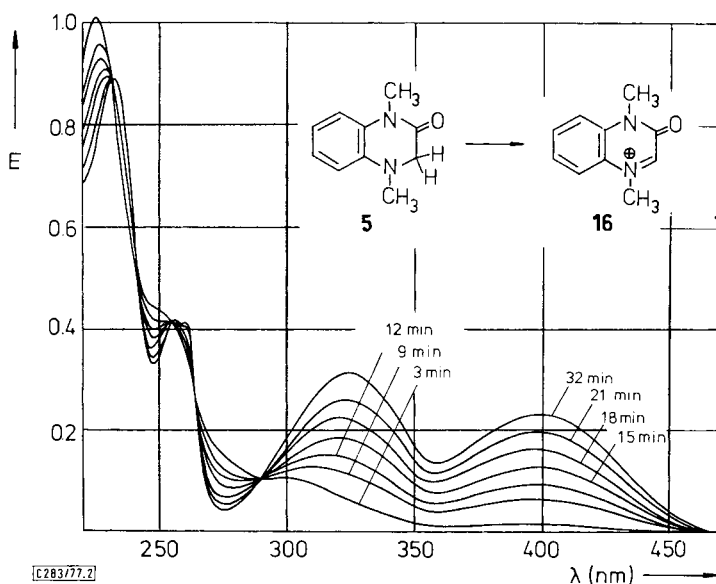
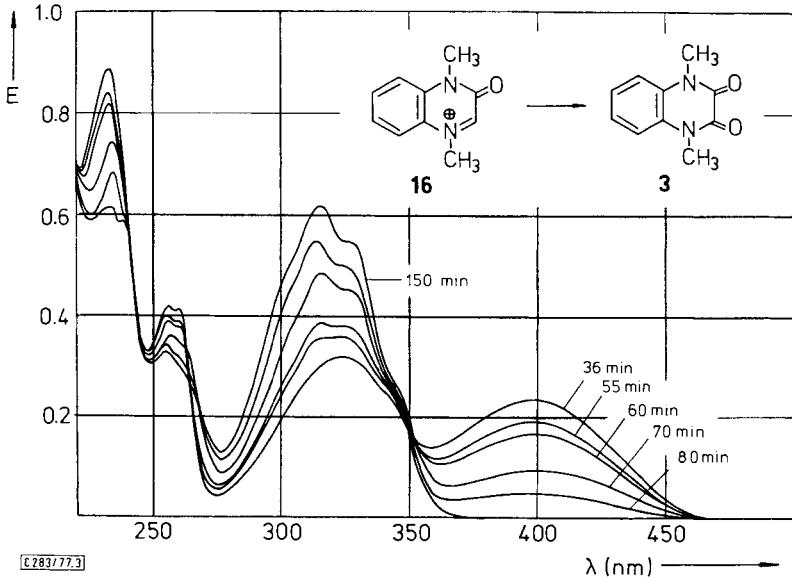
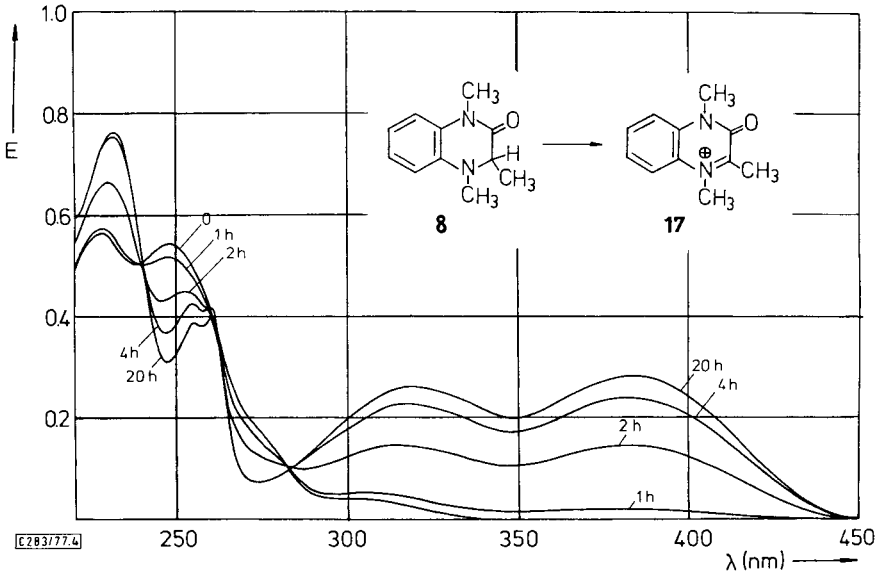


Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der Autoxidation des 1,4-Dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalins (**5**) in 1 N HCl ($c = 1\text{ mg}/100\text{ ml}$) zum 1,4-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydrochinoxalinium-Kation **16**



E283/77.3

Abb. 3. Zeitlicher Verlauf der Autoxidation von **16** zu 1,4-Dimethyl-2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (**3**) in 1 N HCl ($c = 1 \text{ mg}/100 \text{ ml}$)



E283/77.4

Abb. 4. Zeitlicher Verlauf der Autoxidation des 1,3,4-Trimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalins (**8**) in 1 N HCl ($c = 1 \text{ mg}/100 \text{ ml}$)

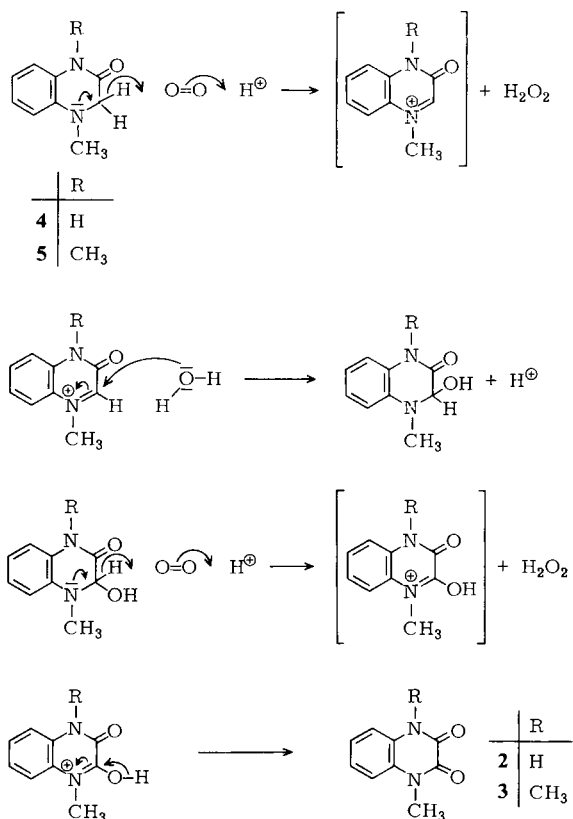
Bei der zeitlichen Verfolgung der durch Licht katalysierten Autoxidation auf UV-spektroskopischem Wege wird eine Zwischenstufe dieses Prozesses sichtbar, und zwar verfärbt sich die Lösung zunächst gelb, und es baut sich im Laufe von 30 min bei 400 nm

ein neues Maximum auf (Abb. 2), das im weiteren Reaktionsverlauf dann unter Ausbildung des Spektrums von **3** wieder verschwindet (Abb. 3).

Zur Aufklärung der strukturellen Verhältnisse dieses Phänomens wurde 1,3-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydrochinoxalin (**10**) zum Tetrahydro-Derivat **7** katalytisch hydriert und dieses dann mit Methyljodid/NaH in DMSO zu 1,3,4-Trimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (**8**) umgesetzt. Dieses Produkt ist ebenfalls autoxidabel und zeigt im sauren Medium in Gegenwart von Sauerstoff insofern analoges Verhalten als hier die entsprechenden charakteristischen langwelligen Absorptionsbanden auftreten (Abb. 4).

Die maximalen Intensitäten werden jedoch erst nach über 10 h erreicht, und dann bleibt die Reaktion auf der Stufe des quartärisierten Zwischenproduktes **17** stehen, dessen Konstitution durch Spektrenvergleich des durch Quartärisierung von **10** mit Methyljodid erhaltenen **17**⁹⁾ gesichert ist.

Wir schlagen aufgrund dieser Befunde für die Autoxidation von **4** und **5** zu den Ausgangschinoxalinen **2** und **3** einen vierstufigen Mechanismus vor, der jedoch nur für verdünnte Lösungen (10^{-4} M) streng gilt, da bei höheren Konzentrationen Nebenreaktionen auftreten, es sei denn man katalysiert mit Licht.



⁹⁾ A. H. Cook und C. A. Perry, J. Chem. Soc. 1943, 394.

Diese Formulierung lehrt, daß bei der Reaktion einmal H_2O_2 gebildet wird und zum andern der Carbonyl-Sauerstoff an C-2 nicht aus dem Luftsauerstoff, sondern aus dem Wasser stammt. Das H_2O_2 haben wir durch einen Enzymtest¹⁰⁾ mit *o*-Dianisidin in Gegenwart von Peroxidase aus Meerrettich nachgewiesen und den Einbau des Wasser-Sauerstoffs in die 2-Position durch Verwendung von H_2^{18}O und massenspektrometrische Charakterisierung der um 2 Masseneinheiten größeren Oxidationsprodukte **2** und **3** sichergestellt. In Blindversuchen wurde nachgewiesen, daß **2** und **3** unter den angewandten Bedingungen keinen Austausch eingehen. Als weiterer Beweis können auch die unter anaeroben Bedingungen durchgeführten Reoxidationen von **4** und **5** mit $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ als Elektronenacceptor¹¹⁾ angesehen werden, die entsprechend glatt zu **2** und **3** als Endprodukte führen.

Der Mechanismus steht auch insofern mit der Oxidationskinetik (Abb. 2) in Einklang, als im sauren Medium die Hydratation der Chinoxalium-Kationen den langsamsten Reaktionsschritt darstellt und durch die Fixierung des Gleichgewichtes von der Pseudobasen- auf die Kationseite die Akkumulation dieser Intermediärform verständlich wird. Für die Weiteroxidation der Pseudobase ist dann schließlich durch die doppelte Donatorwirkung der Amin- und Hydroxyfunktion an C-2 eine günstige Voraussetzung für den formalen Hydrid-Transfer zum Sauerstoff geschaffen.

Die *Deutsche Forschungsgemeinschaft* und der *Fonds der Chemischen Industrie* haben diese Arbeit in dankenswerter Weise unterstützt. Dem *Deutschen Akademischen Austauschdienst* (DAAD) danken wir für die Gewährung eines Stipendiums.

Experimenteller Teil

UV-Spektren und spektroskopische Bestimmung der pK_a -Werte: Cary-Recording-Spectrophotometer, Modell 15, der Fa. Applied Phys. Corp. – NMR-Spektren: Varian A60A bzw. Jeol JNM-MH-100-Gerät. – Massenspektren: Bei 70 eV mit Modell CH 7 der Fa. Varian-MAT. – Polarogramme: Polarocord E 261 der Fa. Metrohm in Verbindung mit dem Polarographie-Stand E 354 mit Tropfkontroller. Zusätzliche Ausrüstung, Meßmethodik und Auswertung entsprechen früheren Angaben¹²⁾.

Die Elektrolysen wurden mit einem Jaisle Potentiostat, Modell 60 T-B, gesteuert und durch ein in der Elektronikwerkstatt der Universität Konstanz entwickeltes Coulometer kontrolliert. Die Elektrolysezellen wurden nach Literaturangaben¹³⁾ gebaut, wobei vor Versuchsbeginn die Reaktionslösung jeweils 30 min mit N_2 entlüftet und unter diesem Schutzgas bei Raumtemp. gearbeitet wurde.

1-Methyl-3-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (4)

a) 1.0 g (5.6 mmol) 1-Methyl-2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (**2**)¹⁴⁾ wird in 300 ml 1 N HCl und 40 ml Ethanol unter N_2 in einer 500-ml-Elektrolysezelle ($V = -820$ mV; $I_0 = 300$ mA; $I_T = 2.5$ mA) kathodisch reduziert. Nach 5 h wird die Reaktionslösung in ein Becherglas übergeführt und rasch mit konz. NH_3 auf pH 8 gebracht. Man zieht das Ethanol i. Vak. bei 40°C ab und saugt dann den abgeschiedenen farblosen Niederschlag, 0.35 g (38%), vom Schmp. 134 bis 137°C ab. Die Mutterlauge wird mit Chloroform extrahiert, die Chloroformphase über Na_2SO_4

¹⁰⁾ O. Lockridge, V. Massey und P. A. Sullivan, J. Biol. Chem. **247**, 8097 (1972).

¹¹⁾ B. S. Thyagarajan, Chem. Rev. **58**, 450 (1958).

¹²⁾ H. Braun und W. Pfeleiderer, Liebigs Ann. Chem. **1973**, 1082.

¹³⁾ Lit.⁵⁾, S. 233.

¹⁴⁾ G. W. H. Cheeseman, J. Chem. Soc. **1955**, 1804.

getrocknet und dann zur Trockne eingeengt (0.45 g). Zweimaliges Umkristallisieren des schwach gelblichen Materials aus 25 ml Wasser ergibt weitere 0.18 g (24%) gelbliche Nadeln vom Schmp. 137°C. — Massenspektrum: $m/e = 162$.

$C_9H_{10}N_2O$ (162.2) Ber. C 66.65 H 6.22 N 17.27 Gef. C 66.45 H 6.14 N 17.28

b) 88 mg (0.5 mmol) **2**¹⁴⁾ werden in 60 ml 1 N Ammoniumformiat-Lösung und 12 ml Ethanol (pH 7.6) wie vorstehend elektrolysiert ($V = -1400$ mV; $I_0 = 30$ mA; $I_T = 1$ mA). Nach 5 h sind von den theoretisch zu erwartenden 193 Coulomb 196 Coulomb aufgenommen. Eine kleine Probe wird entnommen und das UV-Spektrum bei pH 0 mit **4** verglichen. Die Übereinstimmung der Spektren und das Autoxidationsverhalten sprechen für übereinstimmende Konstitutionen.

1,4-Dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (5): Eine Lösung von 1.0 g (5.25 mmol) 1,4-Dimethyl-2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (**3**)¹³⁾ in 250 ml 1 N HCl und 50 ml Ethanol wird 7 h unter N_2 elektrolysiert ($V = -800$ mV; $I_0 = 300$ mA; $I_T = 2.5$ mA). Nach beendeter Reduktion wird vom Quecksilber dekantiert, mit konz. NH_3 rasch auf pH 8 gebracht und dann mit 300 ml Chloroform extrahiert. Die Chloroformphase wird über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingeengt. Das Rohprodukt (0.80 g; 86%) liefert durch zweimaliges Umkristallisieren aus n-Hexan 0.636 g (68%) farblose Prismen vom Schmp. 76–78°C. — Massenspektrum: $m/e = 176$.

$C_{10}H_{12}N_2O$ (176.2) Ber. C 68.16 H 6.86 N 15.90 Gef. C 68.01 H 6.79 N 15.88

1,3-Dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (7): 15.0 g (86 mmol) 1,3-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydrochinoxalin (**10**)⁹⁾ werden in 500 ml Ethanol suspendiert und mit 400 mg PtO_2 2 Tage bei Raumtemp. und Normaldruck in der Schüttelente hydriert. Nach Aufnahme der ber. Menge H_2 wird die Lösung durch Kieselgel filtriert und i. Vak. zur Trockne eingeengt. Der Rückstand ergibt nach Destillation bei 122°C/10⁻³ Torr 10.0 g (66%), von denen 1.0 g aus 10 ml Ether umkristallisiert 0.634 mg (42%) farblose Nadeln vom Schmp. 56–57°C lieferte. — Massenspektrum: $m/e = 176$.

$C_{10}H_{12}N_2O$ (176.2) Ber. C 68.16 H 6.86 N 15.90 Gef. C 67.99 H 6.89 N 15.81

1,3,4-Trimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin (8): 150 ml frisch getrocknetes DMSO werden mit 1.0 g NaH unter Stickstoffatmosphäre versetzt. Man rührt im Ölbad bei 70°C, bis Auflösung eingetreten ist, kühlt auf Raumtemp. und gibt dann innerhalb von 30 min tropfenweise eine Lösung von 5.0 g **7** in 25 ml absol. DMSO zu, wobei sich die Lösung dunkelgrün verfärbt. Nach einer weiteren Stunde tropft man 2.3 g Methyljodid in 15 ml DMSO zu, wobei die Farbe der Lösung langsam nach gelb umschlägt. Man rührt noch $\frac{1}{2}$ h, engt i. Vak. ein, versetzt mit 250 ml Wasser und extrahiert mehrmals mit Benzol. Die organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Das Rohprodukt destilliert bei 97°C/10⁻³ Torr und ergibt 4.0 g (74%), die durch Umkristallisation aus 40 ml Ether 2.3 g (60%) farblose Nadeln vom Schmp. 45–48°C liefern. — Massenspektrum: $m/e = 190$.

$C_{11}H_{14}N_2O$ (190.2) Ber. C 69.44 H 7.42 N 14.73 Gef. C 69.32 H 7.37 N 14.66

Enzymatische Bestimmung von Wasserstoffperoxid bei der Autoxidation von 5: 0.144 mg **5** in 7.2 ml 1 N HCl werden $\frac{1}{2}$ h mit einem Dia-Projektor bestrahlt, wonach das UV-Spektrum vollständige Oxidation zu **3** anzeigt. Die Lösung wird mit 1 N KOH auf pH 7 gebracht. Hiervon werden 2.75 ml mit 0.13 ml 3 M Phosphatpuffer pH 7 und 0.12 ml einer frisch hergestellten Lösung, die sich aus 0.8 ml 10⁻³ M *o*-Dianisidin-hydrochlorid in 3 · 10⁻³ M EDTA und 0.2 ml 20proz. Triton X-100 zusammensetzt, vereinigt. Das Gesamtvolumen der Lösung beträgt 3 ml. Man setzt dann 50 μ l Peroxidase-Lösung¹⁰⁾ (1 mg/ml) zu und vermischt die sofort auftretende braunrote Färbung spektrophotometrisch durch Bestimmung der Extinktion bei 460 nm ($E = 0.89$).

Nach den Literaturangaben ergibt sich aus dem molaren Extinktionskoeffizienten für den entstandenen Farbstoff ($\epsilon = 1.16 \times 10^4$) eine gebildete H_2O_2 -Konzentration von 7.9×10^{-5}

mol/l, was einem $\text{H}_2\text{O}_2/5$ -Verhältnis von 1.55 entspricht. Obwohl der ber. Wert von 2 nicht erreicht wird, unterstreicht das Resultat doch eindeutig den vorgeschlagenen Reaktionsverlauf.

Autoxidation von 4 und 5 in Gegenwart von H_2^{18}O : Jeweils 2 mg **4** bzw. **5** in 3 ml 1 N methanolischer HCl werden mit 20 μl 10proz. H_2^{18}O versetzt und dann in einer UV-Küvette 1 h mit einer Dia-Projektor-Lampe bestrahlt. Die intermediär auftretende Gelbfärbung ist danach wieder verschwunden, und das UV-Spektrum zeigt die Umwandlung in **2** bzw. **3** an. Parallel hierzu werden unter gleichen Bedingungen zu Vergleichszwecken zwei Blindexperimente mit normalem H_2O -Zusatz durchgeführt.

Nach beendeter Reaktion werden die verschiedenen Ansätze getrennt eingeeengt und die jeweiligen Rückstände massenspektrometrisch untersucht.

Die mit H_2^{18}O behandelten Proben ergaben dabei Molekül-Ionen-Peaks $m/e = 178$ bzw. 192 mit einer relativen Intensität von 5%, während in den Blindversuchen die $M + 2$ Peaks neben den normalen Signalen von **2** und **3** bei $m/e = 176$ bzw. 190 nicht nachgewiesen werden konnten.

[283/77]