



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 664 962 A5

⑤① Int. Cl.⁴: C 07 D 241/10
C 12 P 3/00

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer: 1326/84

㉔ Anmeldungsdatum: 16.03.1984

㉓ Priorität(en): 18.03.1983 US 476544

㉔ Patent erteilt: 15.04.1988

④⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 15.04.1988

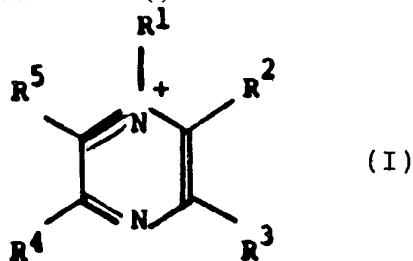
㉗ Inhaber:
The Coca-Cola Company, Atlanta/GA (US)

㉗ Erfinder:
Iacobucci, Guillermo Arturo, Atlanta/GA (US)
King, George Alexander, Atlanta/GA (US)
Goldstein, Jacob H., Atlanta/GA (US)
Benemann, John R., Fairfield/CA (US)

㉗ Vertreter:
Ritscher & Seifert, Zürich

⑤④ **Monoquaternisierte Pyraziniumverbindungen und Verfahren zum Uebertragen von Hochenergieelektronen.**

⑤⑦ Die monoquaternisierten Pyraziniumverbindungen entsprechen der Formel (I)



worin

R¹ Alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen, (Sulfonyl)alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen oder (Carboxy)alkyl mit 2 bis 4 C-Atomen ist;

R², R⁴ und R⁵ unabhängig gewählt sind aus Wasserstoff und Alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen;

R³ Sulfonyl oder eine Gruppe der Formel (CH₂)_nCHXY ist, worin

X Wasserstoff, Hydroxy, Carboxy, Carboxamido, Sulfonyl, (Sulfonyl)alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen, (Carboxy)alkyl mit 2 bis 4 C-Atomen oder Dihydroxyalkyl mit 2 bis 3 C-Atomen;

Y Wasserstoff, (Sulfonyl)alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen, Dihydroxyalkyl mit 2 bis 3 C-Atomen oder Alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen und n eine ganze Zahl von 0 bis 3 bzw. wenn eine von X oder Y eine Sulfonylgruppe oder eine (Sulfonyl)alkylgruppe darstellt oder wenn X und Y zusammen multiple polare Gruppen darstellen, eine ganze Zahl von 0 bis 6 ist,

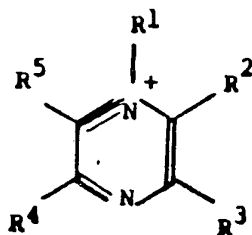
mit der Massgabe, dass

wenn R¹ Alkyl ist, R³ nicht Alkyl ist; und

wenn R¹ und R³ zusammen einen anderen als einen Carboxy- oder Sulfonylsubstituenten enthalten, auch ein Gegenion vorhanden ist. Solche Verbindungen sind zum Übertragen von Hochenergieelektronen von einer Elektronen-fotoaktivierenden Quelle geeignet.

PATENTANSPRÜCHE

1. Monoquaternisierte Pyraziniumverbindung der Formel (I)



worin

R¹ Alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen, (Sulfonyl)alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen oder (Carboxy)alkyl mit 2 bis 4 C-Atomen ist;

R², R⁴ und R⁵ unabhängig gewählt sind aus Wasserstoff und Alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen;

R³ Sulfonyl oder eine Gruppe der Formel (CH₂)_nCHXY ist, worin

X Wasserstoff, Hydroxy, Carboxy, Carboxamido, Sulfonyl, (Sulfonyl)alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen, (Carboxy)alkyl mit 2 bis 4 C-Atomen oder Dihydroxyalkyl mit 2 bis 3 C-Atomen;

Y Wasserstoff, (Sulfonyl)alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen, Dihydroxyalkyl mit 2 bis 3 C-Atomen oder Alkyl mit 1 bis 3 C-Atomen und n eine ganze Zahl von 0 bis 3 bzw. wenn eine von X oder Y eine Sulfonylgruppe oder eine (Sulfonyl)alkylgruppe darstellt oder wenn X und Y zusammen multiple polare Gruppen darstellen, eine ganze Zahl von 0 bis 6 ist, mit der Massgabe, dass

wenn R¹ Alkyl ist, R³ nicht Alkyl ist; und

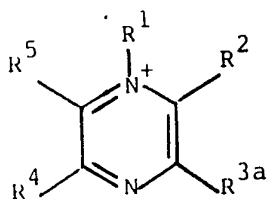
wenn R¹ und R³ zusammen einen anderen als einen Carboxy- oder Sulfonylsubstituenten enthalten, auch ein Gegenion vorhanden ist.

2. Verbindung nach Anspruch 1, worin R¹ Alkyl ist.

3. Verbindung nach Anspruch 1, worin R³ eine Gruppe der Formel -(CH₂)_nCHXY ist.

4. Verbindung nach Anspruch 1, worin R³ Sulfonyl oder -(CH₂)_nCHXY und X Hydroxy, Carboxy, Carboxamido, Sulfonyl, (Sulfonyl)alkyl, (Carboxy)alkyl oder Dihydroxyalkyl ist.

5. Verfahren zum Übertragen von Hochenergieelektronen von einer Elektronen-fotoaktivierenden Quelle, dadurch gekennzeichnet, dass man die Quelle mit einer monoquaternisierten Pyraziniumverbindung der Formel (Ia)



kombiniert, in der R¹, R², R⁴ und R⁵ die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und R^{3a} die Bedeutung von R³ gemäss Anspruch 1 hat oder Wasserstoff ist, mit der Massgabe, dass wenn R¹ Alkyl ist R^{3a} nicht Alkyl ist oder wenn R¹ und R^{3a} zusammen andere als Carboxy- oder Sulfonylsubstituenten enthalten auch ein Gegenion vorhanden ist.

6. Verfahren nach Anspruch 5, gekennzeichnet durch Kombinieren der Elektronen-fotoaktivierenden Quelle mit der Pyraziniumverbindung der Formel (Ia), bei der R^{3a} Sulfonyl oder -(CH₂)_nCHXY ist, wobei X Hydroxy, Sulfonyl, (Sulfonyl)alkyl oder Dihydroxyalkyl ist.

2

7. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) 1-(3-Sulfonylpropyl)-2,5-dimethylpyrazin verwendet.

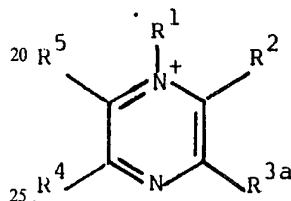
8. Verfahren nach Anspruch 5, gekennzeichnet durch Kombinieren der Elektronen-fotoaktivierenden Quelle und der Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) mit einem Reduktionsmittel.

9. Verfahren nach Anspruch 6, worin R¹ in der Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) Alkyl ist.

10. Verfahren nach Anspruch 8, worin das Reduktionsmittel einen Enzymkatalysator enthält.

11. Verfahren nach Anspruch 9, worin der Katalysator Nitrogenase ist.

12. Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Wasserstoff aus Wasser, gekennzeichnet durch Kombinieren von Wasser, Chloroplasten und Nitrogenase mit einer monoquaternisierten Pyraziniumverbindung der Formel (Ia)



(Ia)

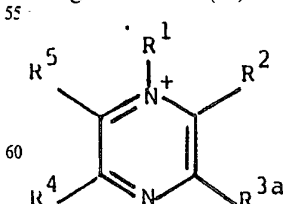
in der R¹, R², R⁴ und R⁵ die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und R^{3a} die Bedeutung von R³ gemäss Anspruch 1 hat oder Wasserstoff ist, mit der Massgabe, dass wenn R¹ Alkyl ist R^{3a} nicht Alkyl ist oder wenn R¹ und R^{3a} zusammen andere als Carboxy- oder Sulfonylsubstituenten enthalten auch ein Gegenion vorhanden ist, zur Bildung eines fotolytischen Systems und Belichten des fotolytischen Systems mit sichtbarem Licht in Abwesenheit von Stickstoff.

13. Verfahren nach Anspruch 12, gekennzeichnet durch Kombinieren von Wasser, Spinat-Chloroplasten, mikrobieller Nitrogenase und der Pyraziniumverbindung der Formel (Ia).

14. Verfahren nach Anspruch 12, gekennzeichnet durch Bildung eines fotolytischen Zweistufensystems, das Chloroplasten und die Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) in einer Stufe und Wasser, Nitrogenase und die Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) in der anderen Stufe enthält, und Verbinden der Stufen durch eine semipermeable Membran, die den Durchgang der Pyraziniumverbindung aber nicht den Durchgang von Chloroplasten oder von Nitrogenase gestattet.

15. Verfahren nach Anspruch 14, gekennzeichnet durch Sammeln von Wasserstoff über der Nitrogenasestufe und Sammeln von Sauerstoff über der Chloroplaststufe.

16. Verfahren zur verstärkten Fixierung von Stickstoff durch Rhizobien, gekennzeichnet durch Zusammenbringen der an ihrem natürlichen symbiotischen Wirt hängenden Rhizobien mit einer monoquaternisierten Pyraziniumverbindung der Formel (Ia)



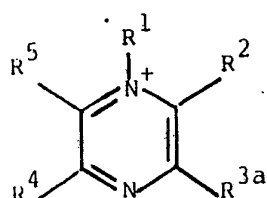
(Ia)

in der R¹, R², R⁴ und R⁵ die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und R^{3a} die Bedeutung von R³ gemäss Anspruch 1 hat oder Wasserstoff ist, mit der Massgabe, dass wenn R¹ Alkyl ist R^{3a} nicht Alkyl ist oder wenn R¹ und R^{3a} zusammen andere als Carboxy- oder Sulfonylsubstituenten enthalten auch ein Gegenion vorhanden ist.

17. Verfahren nach Anspruch 16, gekennzeichnet durch periodisches Aufbringen einer wässrigen Lösung oder Aufschlämmung der Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) auf eine Anpflanzung eines mit Rhizobien angeimpften Rhizobienwirtes.

18. Verfahren nach Anspruch 17, worin der Wirt eine Hülsenfrucht ist.

19. Verfahren zur Herstellung von Ammoniak, gekennzeichnet durch Kombinieren von Wasser, Chloroplasten und Nitrogenase mit einer monoquaternisierten Pyraziniumverbindung der Formel (Ia)



(Ia)

in der R^1 , R^2 , R^4 und R^5 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und R^{3a} die Bedeutung von R^3 gemäss Anspruch 1 hat oder Wasserstoff ist, mit der Massgabe, dass wenn R^1 Alkyl ist R^{3a} nicht Alkyl ist und wenn R^1 und R^{3a} zusammen andere als Carboxy- oder Sulfonylsubstituenten enthalten auch ein Gegenion vorhanden ist, zur Bildung eines fotoaktiven Systems und Behandeln des fotoaktiven Systems mit sichtbarem Licht und Stickstoff.

20. Verfahren nach Anspruch 19, gekennzeichnet durch Kombinieren von Wasser, Spinat-Chloroplasten, mikrobieller Nitrogenase, der Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) und Stickstoff.

21. Verfahren nach Anspruch 19, gekennzeichnet durch Bildung eines fotolytischen Zweistufensystems enthaltend Wasser, Chloroplasten und Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) in einer Stufe und Wasser, Stickstoff, Nitrogenase und Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) in der anderen Stufe und durch Verbinden der Stufen mittels einer semipermeablen Membran, welche den Durchgang von Pyraziniumverbindung der Formel (Ia) aber nicht den Durchgang von Chloroplasten oder Nitrogenase gestattet.

BESCHREIBUNG

Die Fotosynthese ist ein für die Erhaltung unserer Biosphäre fundamentaler Prozess. Wenn dieser Prozess von lebenden Organismen bewirkt wird, erfordert die Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie das Pigment Chlorophyll als Fotosensibilisator. Bei Organismen höherer Ordnungen, wie etwa bei Eukaryonten, wird diese Funktion von spezialisierten Zellorganellen übernommen, nämlich den Chloroplasten, die viele Eigenschaften ähnlich denen von selbständigen Organismen haben.

Die von den Chloroplasten absorbierte Lichtenergie führt zur Fotolyse von Wasser und einer Potentialerhöhung der fotolytisch erzeugten «energiearmen» Elektronen (+ 800 mV) auf «energiereiche» Werte von - 600 mV. Die «energiereichen» Elektronen werden von den primären Elektronenträgern eingefangen, die in Chloroplasten auftreten. Die resultierenden, «energiereichen» reduzierten Träger werden dann von den Organismen zur Umwandlung von Kohlendioxid in Kohlehydrate oder Kohlenwasserstoffe verwendet bzw. zur Umwandlung von Stickstoff in Ammoniak, und zwar unter Anwendung von enzymatisch verknüpften Prozessen. Bei Bedingungen, bei welchen diese Prozesse nicht in vollem Masse operativ sind, etwa bei begrenzter Verfügbarkeit von Kohlendioxid oder Stickstoff, werden die reduzierten Elektronenträger überdies in eine Wasserstoff erzeugende

Reaktion umgelenkt, die durch Nitrogenase bzw. Hydrogenasen katalysiert wird.

Obwohl die Fotosynthese bzw. die in Chlorophyll-Organellen ablaufenden Umsetzungsprozesse nicht völlig geklärt sind, weiss man, dass die sukzessive Absorption von zwei Lichtquanten durch die gekoppelten Chlorophyllpigmente P.680 und P.700 erforderlich ist, um die Energie der durch die Fotolyse von Wasser erzeugten Elektronen auf diejenigen Werte anzuheben, die zur Bildung der reduzierten Elektronenträger erforderlich sind. Die hohen Potentiale, welche von den durch Lichteinwirkung angeregten Elektronen erreicht werden, sind ausreichend zur Reduktion der Eisen/Schwefel-Ballungen, welche in gebundenen primären Elektronenträgern, wie Ferredoxin, vorhanden sind. Die Energie wird dann auf lösliche Elektronenträger, wie freies Ferredoxin oder Flavodoxin, übertragen. Eine eingehendere Diskussion des biologischen Fotosyntheseprozesses finden sich bei J.R. Benemann et al, «Advances in Microbial Physiology», Band 5, Academic Press London, 1971, Seiten 135-172; D.I. Arnon et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 78, 2942-6 (1981); M. Calvin, «Living Systems as Energy Converters», North Holland Pub., Amsterdam, 1977, Seiten 231-259.

Proteine, wie die Ferredoxine und Flavodoxine, sind die natürlichen Elektronenträger, die in biologischen Organismen vorhanden sind, welche am in vivo Transfer von hochenergetischen Elektronen sowohl in aeroben als auch in anaeroben Prozessen beteiligt sind, siehe E. J. Knight et al, J. Biol. Chem., 241, 2752 (1966). Diese Proteine nehmen an der in vivo ablaufenden lichtabhängigen Stickstofffixierung, Kohlehydratproduktion und Wasserstoffentwicklung sowie an der von der Lichteinwirkung abhängigen anaeroben Stickstofffixierung teil, siehe T. R. Hamilton et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 52, 637 (1964). Im wesentlichen sorgen sie für die Übertragung der energiereichen oder hochenergetischen Elektronen vom Chlorophyll auf die Enzyme, welche diese Elektronen verwenden.

Künstliche Systeme, die Ferredoxine und Flavodoxine verwenden, sind in jüngster Zeit als Teil verschiedener Untersuchungen in Richtung auf synthetische Wasserstoffproduktion durch Fotolyse von Wasser entwickelt worden. Derartige Systeme sind auch als Versuchsfeldmodelle für die Untersuchung von fotosynthetischen Reaktionen verwendet worden. Im typischen Fall kann das System einen synthetischen Fotoaktivator oder aber isolierte Pflanzenchloroplasten, einen Elektronenträger und ein Enzym, wie Nitrogenase oder Hydrogenase, verwenden, siehe J. R. Benemann et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 64, 1079 (1969) und J. R. Benemann, «Living Systems as Energy Converters», North Holland Publ., Amsterdam, 1977, Seiten 285-297. Bei einem solchen Modell wird die Aktivität des durch die Fotosynthesereaktion stimulierten Systems z.B. verfolgt durch Reduktion von Acetylen zu Ethylen.

Untersuchungen unter Verwendung von isolierten Chloroplastensystemen haben gezeigt, dass auch andere Verbindungen als Elektronenträger wirken und anstelle von Ferredoxin oder Flavodoxin eingesetzt werden können. Beispielsweise sind Dipyrindyle, wie Methylviologen, Benzylviologen und die cyclischen Analogverbindungen hiervon, zur Kuppelung von belichteten Chloroplasten und Enzymhydrogenase befähigt, siehe K. K. Rao et al, «Photosynthesis in Relation to Model Systems», Seiten 299-329, Elsevier, Amsterdam, 1979; I. Okura et al, J.C.S. Chem. Comm., 1980, 84. Diese synthetischen Verbindungen können auch in zellularen fotochemischen Redoxreaktionen aufeinander einwirken und «Kurzschlüsse» der fotosynthetischen Reaktionswege auslösen. Es ist daher nicht überraschend, dass einige Dipyrindyle, wie Diquat und Paraquat, eine herbizide Aktivität haben,

siehe B. Kock et al, Biochem. Biophys. Acta, 1091, 347 (1965).

Im allgemeinen sind jedoch sehr wenige organische Verbindungen bekannt, die wirksam als Elektronenträger für Chloroplasten oder synthetische Fotoaktivatorsysteme wirken. Im typischen Fall stimmen die Potentiale der reduzierten Formen der bekannten niedermolekularen organischen Träger nicht mit dem für eine wirksame Enzymkopplung erforderlichen Potential überein. Als Folge wird die Übertragung der energiereichen Elektronen durch diese Träger zu unwirksam. Überdies begünstigt jede Tendenz der reduzierten Formen der Träger zur Erhaltung der Bindung an die Chloroplasten eine unerwünschte Umkehrreaktion mit den Organellen, was zu einem Versagen des Elektronenübertragungsprozesses führt. Synthetische Elektronenträger, die nach Art von Protein aufgebaut bzw. aus Protein synthetisiert sind, wie die synthetischen Analogverbindungen von Flavodoxin oder Ferredoxin, sind theoretisch ebenfalls möglich. Die Synthesen solcher Verbindungen wären aber kompliziert und deren Halbwertszeiten wären kurz und würden besondere Verfahren und Synthesewege erfordern, wie sie mit der Verwendung von Proteinen verbunden sind. Dementsprechend bedingt die Natur des Trägers einen der begrenzenden Faktoren für künstliche fotosynthetische Systeme.

Es ist daher ein Ziel der Erfindung, synthetische organische Verbindungen zu entwickeln, die als wirksame Elektronenträger in einem Chloroplastensystem oder in einem synthetischen Fotoaktivator-Fotosynthesesystem wirken können. Ein anderes Ziel ist die Erzeugung einer stabilen organischen Verbindung, welche die Effizienz eines Fotosynthesesystems erhöht. Ein weiteres Ziel ist die Herstellung einer organischen Verbindung, die in einem reduzierten energetischen Zustand hochgradig stabil ist. Ein weiteres Ziel ist die Herstellung von wasserlöslichen organischen Verbindungen, welche die Transduktionsprozesse unter Verwendung von Chloroplast-Organellen maximieren.

Diese und weitere Ziele werden erfindungsgemäss erreicht durch bestimmte monoquaternisierte Pyraziniumverbindungen, welche die fotosynthetische Produktion von Wasserstoff, Ammoniak und Kohlehydraten erleichtern.

Erfindungsgemässe monoquaternisierte Pyraziniumverbindungen besitzen die in Anspruch 1 definierte Formel (I).

Bevorzugte Pyraziniumverbindungen der Formel (I) haben die in den Ansprüchen 2 bis 4 angegebenen Merkmale.

Pyraziniumverbindungen der in Anspruch 5 angegebenen Formel (Ia) stellen eine bevorzugte Ausführungsform dar und werden erfindungsgemäss nach dem Verfahren von Anspruch 5 verwendet.

Bevorzugte Formen dieser Verfahren haben die in den Ansprüchen 6 bis 11 genannten Merkmale.

Ein weiteres erfindungsgemässes Verfahren hat die in den Ansprüchen 12, 16 und 19 angegebenen Merkmale; bevorzugte Ausführungsformen dieser Verfahren haben die Merkmale der Ansprüche 13 bis 15, 17, 18, 20 und 21.

Im Zusammenhang mit der Erfindung ist ein Gegenion ein Anion, das als Gegenion der monoquaternären Pyraziniumsalzverbindung der Formel (I) wirkt, wenn in den Substituenten R^1 und R^3 gemäss Formel (I) eine anionische Gruppe fehlt. Wenn hingegen eine solche anionische Gruppe vorhanden ist, ist ein Gegenion nicht erforderlich, da die resultierende Verbindung zwitterionisch ist. Hierfür geeignete Anionen sind die der entsprechenden mineralischen oder organischen Säuren. Nicht abschliessende Beispiele sind: Halogenid, Sulfat, Bisulfat, Phosphat, Biphosphat, Nitrat, Perchlorat, Borat, Citrat, Tartrat, Acetat, Propionat, Succinat, Benzoat und dergleichen.

Ebenfalls im Zusammenhang mit der Erfindung bedeutet die Bezeichnung «Sulfonyl» denjenigen Rest $-SO_2H$, der

von Sulfonsäure abgeleitet ist. Dementsprechend ist (Sulfonyl)-ethyl eine Gruppe der Formel $CH_3CH_2-SO_3-$ und (Sulfonyl)-ethylbenzol wäre als Gruppe der Formel $C_6H_5CH_2CH_2-SO_3-$ zu definieren.

⁵ Bevorzugte Verbindungen der Formel (I) sind solche, die als Substituenten R^1 bis R^5 bzw. X und Y die folgenden Gruppen aufweisen:

(a) Verbindungen der Formel (I), worin R^1 Alkyl ist;
(b) Verbindungen der Formel (I), worin R^3 eine Gruppe

¹⁰ der Formel $(CH_2)_nCHXY$ ist;

(c) Verbindungen der Formel (I), worin R^2 Wasserstoff ist;

(d) Verbindungen der Formel (I), worin R^2 , R^4 und R^5 unabhängig gewählt sind aus Wasserstoff und Methyl;

¹⁵ (e) Verbindungen der Formel (I), worin R^1 (Sulfonyl)-alkyl ist;

(f) Verbindungen der Formel (I), worin R^3 Sulfonyl oder eine Gruppe der Formel $(CH_2)_nCHXY$ ist und X Hydroxyl, Carboxyl, Carboxamido, Sulfonyl, (Sulfonyl)-alkyl, (Carboxyl)-alkyl oder Dihydroxyalkyl bedeutet;

(g) Verbindungen gemäss (f), worin R^2 Wasserstoff ist;

(h) Verbindungen der Formel (I), worin R^3 Sulfonyl oder eine Gruppe der Formel $(CH_2)_nCHXY$ bedeutet und X Sulfonyl, Hydroxyl oder (Sulfonyl)-alkyl ist, und

²⁵ (i) Verbindungen gemäss (f) oder (h), worin R^3 eine Gruppe der Formel $(CH_2)_nCHXY$ ist.

Besonders bevorzugte Verbindungen der Formel (I) sind diejenigen, welche als Substituenten R^1 bis R^5 , X und Y die folgenden Gruppen aufweisen, wobei auch die Namen der

³⁰ Verbindungen genannt sind:

1. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl und R^3 ist 1-Hydroxyethyl, d.h. 1-Methyl-3-(1-hydroxyethyl)-pyraziniumjodid.

2. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl und R^3 ist 2-Hydroxyethyl, d.h. 1-Methyl-3-(2-hydroxyethyl)-pyraziniumjodid.

3. R^2 und R^5 sind beide Wasserstoff, R^1 und R^4 sind Methyl und R^3 ist Hydroxymethyl, d.h. 1,5-Dimethyl-3-hydroxymethylpyraziniumjodid.

⁴⁰ 4. R^2 und R^4 sind beide Wasserstoff, R^1 und R^5 sind Methyl und R^3 ist Hydroxymethyl, d.h. 1,6-Dimethyl-3-hydroxymethylpyraziniumjodid bzw. die entsprechende 1,5-Dimethyl-2-hydroxymethylverbindung.

5. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^3 ist Methyl, R^1 ist 3-Sulfonylpropyl, d.h. 1-(3-Sulfonylpropyl)-3-methylpyrazin.

6. R^3 und R^5 sind Wasserstoff, R^2 und R^4 sind beide Methyl und R^1 ist 3-Sulfonylpropyl, d.h. 1-(3-Sulfonylpropyl)-2,5-dimethylpyrazin.

⁵⁰ 7. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl, n ist 1, Y ist Ethyl und X ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-(2-sulfonylbutyl)-pyrazin.

8. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl, n ist 2, Y ist n-Propyl und X ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-(1-sulfonylbutyl)-pyrazin.

9. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl, n ist 2 und X ist 1,2-Dihydroxyethyl, d.h. 1-Methyl-3-(3,4-dihydroxybutyl)-pyraziniumjodid.

⁶⁰ 10. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl, n ist Null und X und Y sind 2,3-Dihydroxypropyl, d.h. 1-Methyl-3-(1,2,6,7-tetrahydroxyhept-4-yl)-pyraziniumjodid.

11. R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl, n ist Null und X und Y sind beide 3-Sulfonylpropyl, d.h. Natrium-4-(1-methyl-3-pyrazinyl)-heptan-1,7-disulfonat.

⁶⁵ 12. Y, R^2 , R^4 und R^5 sind alle Wasserstoff, R^1 ist Methyl, n ist 3 und X ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-(4-sulfonylbutyl)-pyrazin.

13. Y, R², R⁴ und R⁵ sind alle Wasserstoff, R¹ ist Methyl, n ist Null und X ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-sulfonylpyrazin.

14. R², R⁴, R⁵ und Y sind alle Wasserstoff, R¹ ist Methyl, n ist Null und X ist 1,2-Dihydroxyethyl, d.h. 1-Methyl-3-(1,2-dihydroxyethyl)-pyraziniumjodid.

15. R², R⁴ und R⁵ sind alle Wasserstoff, R¹ und Y sind Methyl, n ist Null und X ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-(1-sulfonyl-ethyl)-pyrazin.

16. R², R⁴, R⁵ und Y sind alle Wasserstoff, R¹ ist Methyl, n ist 1 und X ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-(2-sulfonyl-ethyl)-pyrazin.

17. R², R⁴, Y und R⁵ sind alle H, R¹ ist Methyl, n ist Null und R³ ist Sulfonyl, d.h. 1-Methyl-3-sulfonylmethylpyrazin.

18. Y, R² und R⁵ sind Wasserstoff, R¹ und R⁴ sind Methyl, n ist Null und X ist Sulfonyl, d.h. 1,5-Dimethyl-3-sulfonylmethylpyrazin.

19. Y, R² und R⁴ sind Wasserstoff, R¹ und R⁵ sind Methyl, n ist Null und X ist Sulfonyl, d.h. 1,6-Dimethyl-3-sulfonylmethylpyrazin.

20. R², R⁴ und R⁵ sind Wasserstoff, R¹ ist Methyl, n ist 1, X ist Hydroxyl und Y ist Ethyl, d.h. 1-Methyl-3-(2-hydroxybutyl)-pyraziniumjodid.

21. R², R⁴ und R⁵ sind Wasserstoff, R¹ ist Methyl, n ist 1, X ist Sulfonyl und Y ist 1,2-Dihydroxyethyl, d.h. 1-Methyl-3-(2-sulfonyl-3,4-dihydroxybutyl)-pyraziniumsalz.

Allgemein bevorzugt werden ferner die isolierten gereinigten Formen der synthetisch hergestellten Verbindungen der Formeln (I) und (Ia) bzw. der oben genannten Verbindungen 1 bis und mit 21.

Bei der Kombination von biologischen Substanzen, die eine Elektronen-Fotoaktivierungsquelle enthalten, können derartige Systeme mit Verbindungen der Formel (I) bzw. (Ia) auf biosynthetischem Wege zur Gewinnung von Kohlehydraten, von Wasserstoff oder von Ammoniak eingesetzt werden. Solche Systeme können Kombinationen von natürlichen biologischen in vivo Organismen darstellen oder aber in vitro Kombinationen von synthetischen Verbindungen und biologischen Stoffen, welche von biologischen Organismen abgetrennt oder synthetisch bzw. auf dem Wege der Gen-Technik gewonnen bzw. isoliert sind. Ausserdem können die Systeme vollständig aus synthetischen Stoffen bestehen, um die genannten Produkte auf fotosynthetischem Wege zu erzeugen.

Allgemein umfasst ein solches System ein Mittel, das eine fotoaktivierende Quelle ist oder enthält, wie Chloroplasten, in Kombination mit Wasser, eine Verbindung der Formel (I) bzw. (Ia) und ein gekoppeltes reduktives Enzym, wie Hydrogenase oder Nitrogenase.

Gemäss einer bevorzugten Ausführungsform werden Chloroplasten in einem Zweistufensystem verwendet, welches die Chloroplasten, die Verbindung und Wasser in der einen Stufe und das Enzym, die Verbindung und Wasser in der anderen Stufe enthält. Die Stufen sind mittels einer semipermeablen Membran verbunden, welche den Durchgang der Verbindung nicht aber den der Chloroplasten oder Enzyme zulässt. Geeignete Hilfsstoffe, wie Adenosintriphosphat, Salze und Gase können ebenfalls im wässrigen Medium vorhanden sein. Die Produktgase jeder Stufe werden gesondert gesammelt, so dass keine Kurzschlüsse auftreten.

Die Verwendung von in vivo Organismen umfasst beispielsweise die Verstärkung der Stickstofffixierung durch Rhizobien indem man diese mit einer Pyraziniumverbindung in Kontakt bringt. Andere fotoaktivierende Quellen, welche mit den Pyraziniumverbindungen verwendet werden können, sind unter anderen künstliche Substanzen, wie Ruthenium-,

Molybdän- oder Eisen-organometall-Komplexe mit Gruppen, wie Bipyridyl- oder Porphyringruppen.

Die Verbindungen der Formeln (I) bzw. (Ia) sind wirksame Elektronenträger für «hochenergetische» Elektronen, wie sie insbesondere bei der Chlorophyll-Fotosynthese erzeugt werden. In diesem Prozess sind sie zur wiederholten Übertragung von «hochenergetischen» Elektronen von belichteten Chloroplasten auf ein fotosynthetisch gekoppeltes Enzym, wie Nitrogenase, befähigt. Sie können auch als wirksame Träger für «hochenergetische» Elektronen fungieren, die durch synthetische, fotosensibilisierend wirkende Organometallkomplexe, wie Ruthenium-, Molybdän- und Eisen-Komplexe gebildet sind.

Im allgemeinen sind die Verbindungen der Formeln (I) bzw. (Ia) wasserlöslich und haben ein Reduktionspotential von unter etwa -500 Millivolt, gemessen mit einem polarografischen Halbwellenpotential bei pH 7,5. Das Reduktionspotential bezieht sich jedoch nur auf einen erforderlichen Schwellenwert; unterhalb dieses Mindestwertes wird die Aktivität durch die chemische Struktur bestimmt.

Bei Verwendung in fotosynthetischen Systemen wirken die Verbindungen (I) bzw. (Ia) vermutlich als Kopplungsmittel, welche die zur Bildung hochenergetischer Elektronen führende fotolytische Reaktion mit der reduktiven Reaktion unter Verwendung der hochenergetischen Elektronen für die Synthese von Verbindungen, typisch Wasserstoff oder Ammoniak, verbindet; sie können die Energie von der einen Reaktion auf die andere übertragen und dabei ihre strukturelle und chemische Integrität beibehalten. Im reduzierten Zustand sind sie im wesentlichen stabil und erleiden keine wesentlichen Abbau-Nebenreaktionen. Diese Eigenschaft ermöglicht das Verkoppeln der fotolytischen und der reduktiven Reaktionen ohne merklichen Energieverlust und bietet eine ausserordentlich effiziente Energieumwandlung. Ferner erleiden die erfindungsgemässen Verbindungen in ihrer Kapazität als Kopplungsmittel mehrfache Redoxreaktionen. Trotzdem verändern die wiederholten Oxidationen und Reduktionen die Verbindungen nicht in chemischer Weise; die Verbindungen können vielmehr bei einer Vielzahl von Redoxvorgängen ohne Abbau bzw. ohne Versagen funktionieren. Dementsprechend erfordert ein arbeitsfähiges fotosynthetisches System für die Elektronentransfervorgänge keine grossen Mengen der Verbindung.

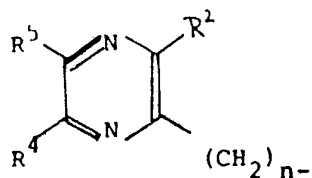
Geeignete Verbindungen der Formel (I) haben im allgemeinen ein erstes Reduktionspotential zwischen etwa -500 und -800 Millivolt bei pH 7,5, gemessen als polarografisches Halbwellenpotential.

Die Synthese der Pyraziniumverbindungen der Formeln (I) bzw. (Ia) kann allgemein aufgrund bekannter chemischer Umwandlungsmethoden für substituierte Pyrazine und organische funktionelle Gruppen erzielt werden. Geeignete Verfahren zur Herstellung erfindungsgemässer Pyraziniumverbindungen ergeben sich aus derartigen Kombinationen von Umwandlungsmethoden. Im allgemeinen beruhen diese Methoden auf der nucleophilen Substitution von und Addition an 2-Chlor- oder -Brompyrazine sowie auf der mit Basen katalysierten Kondensation von 2-Alkylpyrazinen mit Ketonen, Aldehyden, Estern, Sultonen, Sulfonsäureestern und dergl. Multifunktionelle Seitenketten können aus Pyrazin-Zwischenverbindungen synthetisiert werden, die eine im Substituenten entsprechend positionierte «Synthon»-Gruppe besitzen. Derartige Verfahren werden im folgenden eingehender beschrieben bzw. anhand von Schemata erläutert.

Den Verfahren können allgemein zwei Methoden zugeschrieben werden: (1) Synthese von Pyrazinverbindungen mit polaren Substituenten sowie (2) Monoquaternisierung des Pyrazinkerns zur Bildung der Pyraziniumverbindungen. Wenn die monoquaternisierende Gruppe auch der polare

Substituent ist, können diese Methoden natürlich kombiniert werden. Im folgenden soll die Bezeichnung «Pyrazinverbindungen» hier die nicht-quaternisierte Form der erfindungsgemässen Pyraziniumverbindungen bezeichnen.

Allgemeine Verfahren für die Synthese von Pyrazinverbindungen sowie spezielle Methoden für die Synthese von funktionell substituierten Pyrazinverbindungen sind zusammen mit Quaternisierungsverfahren durch die Schemata A bis N erläutert. Die Schemata A bis D zeigen die Synthese der substituierten Pyrazine über intermediäre «Synthone», auf welchen die allgemeine Synthese beruht, sowie die allgemeine Synthese der monofunktionell substituierten Pyrazinverbindungen. Die Schemata E bis J zeigen die allgemeine Synthese von Pyrazinverbindungen mit multifunktionellen Seitenketten aus den intermediären Synthone. Die Schemata K bis M zeigen spezielle Methoden zur Synthese von Pyrazinverbindungen. Das Schema N zeigt Verfahren zur Monoquaternisierung der Pyrazinverbindungen für die Bildung der erfindungsgemässen Pyraziniumverbindungen. Bei diesen Schemata und der folgenden Diskussion wird der Pyrazinkern mit Alkylseitenketten gemäss der Formel



als «Het» bezeichnet.

Das Schema A erläutert ein Verfahren zur Synthese von intermediärem Aldehyd 4, der ein brauchbares Synthon für die Herstellung von als vorletzte Stufe geeigneten Pyrazinverbindungen brauchbar ist. Der Carbonylkohlenstoff des Aldehyds 4 ist eine bifunktionelle Stelle, die zum Anbringen von multiplen funktionellen Gruppen an den Het-Kern verwendet werden kann. Das Schema A zeigt auch Verfahren zur Synthese von monofunktionalisierten Pyrazinverbindungen, wie dem Sulfonat 6, der Carbonsäure 5 und dem Ester 7. Die Verbindungen 5, 6 und 7 können auch nach den in den Schemata K bis M dargestellten Verfahren synthetisiert werden.

Im allgemeinen ist festzustellen, dass viele Pyrazinverbindungen mit Sulfonat- oder Carboxylatresten substituiert sind. Diese Verbindungen können als Salze, z.B. als Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsulfonate oder -carboxylate, oder als freie Säuren, wie Sulfonsäuren, hergestellt werden. Ferner können sie auch als einfache Alkylester hergestellt werden. Die Salze, Säuren und Ester sind nach an sich bekannten Verfahren ineinander umwandelbar, z.B. Veresterung mit Diazoalkan, Neutralisieren der Säure mit Alkali, direkte Herstellung des Salzes oder Umwandlung des Salzes in die Säure. Alle drei genannten Formen fallen unter die Erfindung. Zur Vereinfachung wird die Salzform, im folgenden als E bezeichnet, erläutert.

Gemäss Schema A wird der Aldehyd 4 aus dem Halogen- (Chlor oder Brom) -pyrazin 1 hergestellt, das die in Formel (I) definierten Gruppen R², R⁴ und R⁵ als Substituenten trägt. Das Halogenpyrazin 1 wird zuerst mit dem geschützten Hydroxyalkyl-Grignard-Reagenz I' umgesetzt wie in der Reaktion A1 dargestellt. Die Schutzgruppe R⁶ von Reagenz I' ist eine Alkoholschutzgruppe, wie die Tetrahydropyranyl- (THP) -gruppe oder eine Trialkylsilylgruppe R₃Si, z.B. Trimethylsilyl oder t-Butyldimethylsilyl, oder ähnliche bekannte Hydroxylschutzgruppen, die gegen Carbanionen stabil sind. Die Umsetzung wird meist in einem aprotischen trockenen organischen Lösungsmittel, etwa einem Äther oder ei-

6

nem Kohlenwasserstoff in der Kälte oder bei milden Temperaturen zur Bildung der hydroxylgeschützten Het-Verbindung 2 durchgeführt. Wie in der Reaktion A2 von Schema A dargestellt, entsteht durch die Behandlung der Verbindung 2 mit dem entsprechenden Reagenz zur Entfernung der Schutzgruppe der Alkohol 3, z.B. durch Entfernung von THP mit einer kalten schwachen wässrigen Säure, wie z.B. verdünnter wässriger Essigsäure, oder Entfernung von R₃Si mit Hilfe von Tetra-n-butylammoniumfluorid in einem polaren organischen Lösungsmittel unter milden bzw. kräftigen Bedingungen oder mit Hilfe einer alkoholischen Mineralsäure. Der Alkohol 3 ist nicht nur eine Zwischenverbindung, sondern ein Pyrazin (X ist Hydroxyl, Y ist Wasserstoff).

Wie in der Reaktion A3 dargestellt, kann der Alkohol 3 durch vorsichtige Oxidation in das Aldehyd-Synthon 4 umgewandelt werden, etwa durch Anwendung der sauren Chromtrioxid-Oxidation nach Jones in der Kälte, in Aceton oder in einem ähnlichen Lösungsmittel unter Kühlung oder nach der Chromtrioxid-Pyridinium-Komplexoxidation nach Corey in Methylchlorid oder einem ähnlichen Lösungsmittel auf dem Eisbad oder bei niedrigen Temperaturen. Die Umwandlung kann auch zur Pyrazinsäureverbindung 5 führen, wie in Reaktion A4 dargestellt, wenn man mit einer kräftigen sauren Chromtrioxid- oder Permanganat-Oxidation arbeitet. Ferner können alle anderen bekannten Verfahren zur Herstellung von Aldehyden und Säuren aus Alkoholen angewendet werden, wie z.B. in «Reagents for Organic Synthesis» von L.F. und M. Fieser, Wiley Interscience, New York, beschrieben.

Die Säure 5 kann ihrerseits verestert werden, wie in Reaktion A6 dargestellt, um die Alkylesterpyrazinverbindung 7 nach an sich bekannten Verfahren, wie Behandlung mit Diazoalkan oder Behandlung mit Alkanol und Chlorwasserstoff, zu ergeben.

Die Pyrazinsulfonsalzverbindung 6 wird wie in Reaktion A5 gezeigt durch nucleophile Substitution der funktionalisierten Hydroxylgruppe mit Sulfition aus dem Alkohol 3 hergestellt. Zur Erleichterung dieser Substitution kann der Alkohol in Bromid umgewandelt und mit Natriumsulfit in polarem aprotischem Lösungsmittel behandelt werden. Die bevorzugte Methode zur Herstellung des Sulfonsalzes 6 besteht in der Umwandlung des Alkohols 3 in ein Tosylat durch Umsetzung mit p-Toluolsulfonylchlorid (Tosylchlorid oder TsCl) in einem trockenen Lösungsmittel, wie z.B. einem Äther, Chloroform, Methylchlorid, Dimethylformamid und dergleichen, meist in Gegenwart einer als Getter wirkenden Menge an Pyridin, und folgender Substitution des Tosylats mit Sulfit. Als typische Reaktionsbedingungen sind zu nennen die Verwendung eines polaren Agens, wie Wasser oder Alkohol, sowie milde bis mässige Temperaturen. Obwohl die Sulfonsäure durch Behandlung des entstandenen Salzes mit einer Mineralsäure erhalten werden kann, wird die Sulfonverbindung typischerweise in Salzform, z.B. als Natriumsulfonat, isoliert. Das Salz kann direkt durch Sulfit-substitution des Tosylats erhalten werden. Methoden für diese Umwandlungen sind ebenfalls an sich bekannt.

Die Schemata B, C und D zeigen eine Reihe von chemischen Gruppenumwandlungsschritten, die bei den in den Schemata E bis J dargestellten Pyrazinverbindungssynthesen wiederholt verwendet werden. Der Kürze halber werden diese Schritte separat als Schemata B, C und D erläutert. Aus der folgenden Beschreibung ist zu ersehen, dass die Schritte der Schemata B, C und D und auch einige der Schritte von Schema A zur Herstellung von Pyrazinverbindungen aus dem Aldehyd 4 verwendet werden, d.h. Verbindungen der Formel (II), HetCOR'', worin R'' Wasserstoff ist, oder aus dessen funktionalisiertem Ketonderivat der Formel (II), HetCOR'', worin R'' eine gemäss den vorangegangenen Synthe-

seschritten hergestellte und durch diese definierte Gruppe ist. HetCOR'' wird im folgenden als Aldehyd/Keton (II) bezeichnet.

Das Schema B zeigt eine Folge von Schritten, die zur Herstellung von Zwischenverbindungen angewendet werden können, welche zur Herstellung von Pyrazinverbindungen führen, die mit einer Sulfonsäuregruppe substituiert sind. Wie in der Reaktion B1 dieser Sequenz gezeigt, kann das Aldehyd/Keton (II) in einem trockenen Äther als Lösungsmittel unter milden oder niedrigen bzw. kühlen Temperaturen mit dem geschützten Hydroxyalkyl-Grignard-Reagenz der Formel (III), $ZMg(CH_2)_kOR^7$, worin Z Chlor oder Brom, k eine Zahl von 2 bis 3 und R^7 eine bekannte Hydroxylschutzgruppe ist, welche unter Grignard-Bedingungen beständig ist, wie THP oder SiR_3 , zum Alkohol 8 umgesetzt werden. Wenn R^7 in Alkohol 8 Wasserstoff ist, kann er wie in Reaktion B2 gezeigt nach an sich bekannten Methoden mit Oxidationsmitteln, wie Chromtrioxid, Permanganat und dergleichen, zum Keton 9 oxidiert werden. Alternativ kann der Alkohol 8 wie in Reaktion B3 gezeigt in das entsprechende Tosylat 10 durch Behandlung desselben mit $TsCl$ wie oben beschrieben (Reaktion A5) umgewandelt werden.

In einem zweiten Teil der Sequenz von B werden Pyrazinverbindungen hergestellt, bei welchen eine Sulfonsäuregruppe um eine Methylengruppe von der bifunktionellen Stelle entfernt ist, und zwar unter Verwendung des Methylsulfonsäuremethylesters. Wie in Reaktion B4 gezeigt, kann das Aldehyd/Keton (II) mit dem Carbanion des Methylsulfonsäuremethylesters in trockenem aprotischem organischem Lösungsmittel, wie einem Äther, oder in einem Überschuss des Esters selbst kondensiert werden, worauf das in situ entstehende Alkoxid mit Trialkylsilylchlorid zur Bildung von Silylsulfonatverbindung 11 abgefangen wird. Wenn R^7 in Verbindung 11 Wasserstoff bedeutet, wie in Reaktion B5 gezeigt, kann die Silylgruppe mit wässrigem Tetra-n-butylammoniumfluorid abgespalten werden, worauf die Oxidation des entstandenen sekundären Alkohols nach irgendeiner der bekannten Methoden zur Umwandlung von Alkohol in Keton durch Oxidation gemäss der oben erwähnten Literaturstelle von Fieser zur Bildung des Ketosulfonates 12 folgen kann.

Wie im dritten Teil von Schema B, der Reaktion B6, gezeigt, kann bei einer ähnlichen Sequenz die Wittig-Reaktion angewendet werden. Auch das Aldehyd/Keton (II) kann in einer Wittig-Reaktion mit Sulfonat-Ylid (IV) in einem Äther als Lösungsmittel und unter mässigen Bedingungen zur Bildung von Olefinsulfonat 13 umgesetzt werden. Die Methoden für die Wittig-Reaktion sind bekannt.

Wie im vierten Teil von Schema B, der Reaktion B7, gezeigt, kann das Tosylat 10 mit einem Alkalimetallborhydrid, z.B. Natriumborhydrid, in einem polaren Lösungsmittel und unter milden bis mässigen Bedingungen zum Ersatz der Tosylatgruppen durch ein Hydrid reduziert werden. Auf diese Weise wird die Pyrazinverbindung 10-B erhalten. Diese Tosylatreduktion sowie andere brauchbare Hydroxylgruppenumwandlungen sind in «Compendium of Organic Synthetic Method», I. Harrison, S. Harrison, Wiley-Interscience, New York, 1981, beschrieben.

Das Schema C zeigt eine Sequenz von Schritten, welche zur Herstellung einer olefinischen Zwischenverbindung angewendet werden kann, die zu Pyrazinverbindungen führt, welche mit einer Dihydroxyalkylgruppe substituiert sind. Wie in der Reaktion C1 gezeigt, wird das Aldehyd/Keton (II) mit Vinylolithium oder Alkyl-Grignard-Reagenz (V) zur Bildung von Olefinalkohol 14 umgesetzt. Im typischen Fall kann diese an sich bekannte Umwandlung in trockenem ätherischem Lösungsmittel unter milden bis mässigen Temperaturbedingungen durchgeführt werden. Der Olefinalkohol 14 kann

dann in das Olefinketon 15, das Olefintosylat 16 oder das Acetalketon 17 wie folgt umgewandelt werden; wenn R^7 des Alkohols 14 Wasserstoff ist, wie in Reaktion C2 gezeigt, liefert die Oxidation des Alkohols 14 nach den oben beschriebenen Methoden das Keton 15. Wie in der Reaktion C3 gezeigt, liefert die Behandlung des Alkohols 14 mit Tosylchlorid unter den oben beschriebenen Bedingungen das Tosylat 16.

Wie in der Reaktion C4 gezeigt, führt die milde Oxidation der Olefingruppe des Ketons 15 mit kaltem Osmiumtetroxid oder kaltem Kaliumpermanganat in einem polaren Lösungsmittel zur Umwandlung der Olefingruppe in eine Diolgruppe. Es können beliebige andere Methoden zur Diolherstellung aus Olefinen verwendet werden, wie beispielsweise in «Advanced Organic Chemistry», 2. Auflage, J. March, McGraw-Hill, 1976, beschrieben. Die Behandlung des Diols mit einem Keton, wie Aceton oder Methylethylketon in angesäuertem organischem polarem Lösungsmittel, ergibt das Acetalketon 17.

Das Schema D zeigt eine Schrittfolge, die zur Herstellung einer geschützten Alkylcarbonsäure-Zwischenverbindung verwendet werden kann, was Pyrazinverbindungen liefert, die mit einer (Carboxy)-Alkylgruppe substituiert sind. Wie in Reaktion D1 gezeigt, wird das Aldehyd/Keton (II) mit geschütztem Carboxy-Grignard-Reagenz (VI) in ätherischem Lösungsmittel unter milden Bedingungen gemäss obigen Angaben umgesetzt, was nach Hydrolyse die geschützte Carboxyverbindung 18 liefert. Für das Reagenz (VI) kann jede Carboxylschutzgruppe verwendet werden, die unter den Bedingungen der Grignard-Synthese stabil ist. Die in Schema D gezeigte Oxazidingruppe ist ein Beispiel; sie ist gegen Grignard-Reagenz und gegen Oxidation stabil, kann aber mit ethanolischem Chlorwasserstoff entfernt werden, wie beispielsweise in «Compendium of Organic Synthetic Methods», I. Harrison, S. Harrison, Wiley-Interscience, New York, 1971, beschrieben.

Wie durch die Reaktion D2 gezeigt, kann die Hydroxylgruppe der Verbindung 18 durch Borhydridreduktion des aus der Hydroxylgruppe gebildeten Tosylates in eine Hydridgruppe umgewandelt werden. Die Verbindung 18 wird zuerst mit Alkohol und Säure zur Entfernung der Carboxylschutzgruppe und zur Bildung eines Esters behandelt. Die Hydroxylgruppe des entstehenden Omega-Hydroxyesters wird unter den eben beschriebenen Bedingungen tosyliert, worauf die Tosylatgruppe mit Natriumborhydrid oder einem ähnlichem Borhydrid in einem polaren Lösungsmittel unter milden bis mässigen Bedingungen zur Bildung des Esters 19 reduziert wird. Wenn R^7 der Verbindung 18 Wasserstoff ist, wie durch die Reaktion D3 gezeigt, kann die Hydroxylgruppe der Verbindung 18 nach allen oben erwähnten Methoden zur Oxidation von Hydroxylgruppen zur Herstellung des Ketons 20 zu einer Ketogruppe oxidiert werden.

Multifunktionelle Pyrazinverbindungen gemäss der Erfindung können wie in den Schemata E bis J dargestellt hergestellt werden. Die durch diese Schemata dargestellten Syntheseschritte sind an sich bekannt. Die Schemata variieren als Funktion der Definition des Substituenten X.

Das Schema E zeigt die Synthese von multifunktionellen Pyrazinverbindungen, bei welchen X Hydroxyl bedeutet. In diesem Schema wird wie durch die Reaktionen E1 und E2 die Hydroxysulfonsäurepyrazinverbindung 22 aus dem intermediären Silylsulfonsalz 21 und der Sulfonatverbindung 11 hergestellt. Das Salz 21 wiederum wird aus dem Alkohol 8 der Reaktion B1 hergestellt. Die freie Hydroxylgruppe des Alkohols 8 wird zunächst als Trialkylsilyloxygruppe unter Verwendung von Trialkylsilylchlorid wie oben beschrieben geschützt, worauf die THP-Gruppe selektiv mit kalter schwacher wässriger Säure zur Gewinnung eines Silyloxyal-

kohols (nicht dargestellt) abgespalten wird. Diese Alkoholverbindung kann dann in das Silylsulfonsalz 21 nach der für Schema A (Reaktion A5) beschriebenen Bromid- oder Tosylatmethode umgewandelt werden. Die Entfernung der Silyl-Hydroxyschutzgruppe des Sulfonsalze 21 und der Verbindung 11 nach den für Schema A (Reaktion A2) beschriebenen Methoden und folgender Hydrolyse der Estergruppe von 11 liefert die Hydroxysulfonsalzpyrazinverbindung 22.

Wie durch die Reaktion E3 gezeigt, kann der Olefinalkohol 14 durch Olefinoxidation in die Trihydroxypyrazinverbindung 23 umgewandelt werden. Der Alkohol 14 wird mit einem Olefinoxidationsmittel wie für Schema C (Reaktion C4) zur Gewinnung der Verbindung 23 behandelt.

Schliesslich kann wie durch Reaktion E4 gezeigt der Aldehyd 4 von Schema A mit einem Alkyl-Grignard-Reagenz von 1–3 C-Atomen unter den für Grignard-Reaktionen üblichen Bedingungen zur Gewinnung der sekundären Hydroxypyrazinverbindung 24 umgesetzt werden.

Das Schema F zeigt die Synthese von multifunktionellen Pyrazinverbindungen, bei welchen X Carboxyl bedeutet. Wie durch die Reaktionen F1, F2 und F3 gezeigt, wird das Carboxylat 26 aus einer Cyanidzwischenverbindung 25a und 25b hergestellt. Das Tosylat 10 aus der Reaktion B3 wird mit Cyanid in polarem organischem Lösungsmittel und milden bis kräftigen Bedingungen zur Gewinnung des Cyanids 25a umgesetzt. In ähnlicher Weise kann das Olefinsulfonat 13 aus der Reaktion B6 mit Cyanid in polarem organischem Lösungsmittel zur Gewinnung des Cyanids 25b umgesetzt werden. Das Cyanid 25a kann seinerseits, wie durch die Reaktion F3 gezeigt, durch die Tosylat-Sulfonat-Transformation in die entsprechende Carboxylsulfonoxypyrazinverbindung 26 umgewandelt werden, wobei man nach der Beschreibung für die Reaktion A2 und A5 arbeitet und die nachfolgende Nitrilhydrolyse in wässriger starker Säure, gegebenenfalls unter Zusatz von Alkohol und Erhitzung, durchführt. Das Cyanid 25b wird in ähnlicher Weise durch Hydrolyse der Nitrilgruppe in die entsprechende Carboxylsulfonoxypyrazinverbindung 26 umgewandelt.

Die Reaktionen F5 und F6 zeigen die Herstellung der Dihydroxycarboxypyrazinverbindung 28. Das Olefinketon 15 aus der Reaktion C2 wird mit Dibromoylid-Reagenz (VII) behandelt und das erhaltene Dibromolefin nachfolgend durch Umsetzung mit einem Alkoxid, wie Natriummethoxid in Methanol, zur entsprechenden Alkylvinylätherverbindung (nicht gezeigt) umgesetzt. Diese Verbindung wird mit acidischem Alkohol zur Herstellung der Olefin-carboxylsäure 27 behandelt. Die Säure 27 wird dann mit einem Olefinoxidationsreagenz unter den für die Reaktion C4 beschriebenen Bedingungen zur Gewinnung der Pyrazinverbindung 28 oxidiert.

Die Reaktion F7 zeigt die Herstellung der Alkylcarboxypyrazinverbindung 29. Durch Behandlung von Aldehyd 4 mit einem Alkyl-Grignard-Reagenz von 1–3 C-Atomen mit nachfolgender Umwandlung des entstandenen Alkylalkohols in ein Tosylat unter den für die Reaktion A5 beschriebenen Bedingungen wird durch nucleophile Substitution der Tosylgruppe durch Cyanid und nachfolgende Hydrolyse unter den für die Reaktion F3 beschriebenen Bedingungen die Pyrazinverbindung 29 gebildet.

Das Schema G zeigt die Synthese von multifunktionellen Pyrazinverbindungen, bei welchen X eine Sulfonoxgruppe ist. Die Reaktionen G1 und G2 zeigen die Herstellung der Disulfonsäurepyrazinverbindung 31 aus Alkohol 8 und Sulfonat 13. Diese Umsetzungen werden nach den für die Reaktion A5 beschriebenen Methoden durchgeführt, wobei eine Dibromverbindung oder eine Ditosylatverbindung als Zwischenverbindung verwendet werden kann. Der Alkohol 8 aus der Reaktion B1 wird zunächst hydrolysiert (Reaktion

G1, Bedingungen wie bei Reaktion A2 beschrieben), um die Alkoholschutzgruppe zu entfernen. Die entstandene Dihydroxyverbindung (nicht gezeigt) wird zur Gewinnung des Ditosylates 30 ditosyliert. Das Ditosylat 30 oder die andere Zwischenverbindung, das Olefinsulfonat 13 aus der Reaktion B6, kann dann mit Sulfitanion wie in der Reaktion G2 zur Bildung der Pyrazinverbindung 31 umgesetzt werden.

Die Umsetzungen G3 und G4 zeigen die Herstellung von Dihydroxysulfonatpyrazinverbindung 33. Das Tosylat 16 (R' ist Wasserstoff) aus der Reaktion C3 wird zunächst mit Sulfitanion umgesetzt, wie für die Reaktion A5 beschrieben, um die Olefinsulfonsäure 32 zu erzeugen, die mit einem Olefinoxidationsmittel wie für Reaktion C4 beschrieben zur Bildung der Pyrazinverbindung 33 oxidiert wird.

Schliesslich wird, wie durch die Reaktion G5 gezeigt, die Alkylsulfonsäurepyrazinverbindung 34 durch Reaktion von Aldehyd 4 mit einem Alkyl- (R⁹) Grignard-Reagenz und nachfolgender Tosylat-Sulfonat-Umwandlung des erhaltenen Alkohols gemäss Reaktion A5 gebildet.

Das Schema H zeigt die Synthese von multifunktionellen Pyrazinverbindungen, bei welchen X eine (Sulfonox)-Alkylgruppe von 1–3 C-Atomen ist. Die Reaktionen H1 bis H3 zeigen die Herstellung von Bis(sulfonox)-alkylpyrazinverbindungen 36 und 37. Der Ester 7 aus der Reaktion A6 wird mit zwei Äquivalenten Grignard-Reagenz (III) behandelt, worin R' die Gruppe R₃Si (Bedingungen der Reaktion B1) bedeutet, worauf der entstandene Alkohol (Bedingungen der Reaktion A5) tosyliert und das entstandene Tosylat (Bedingungen gemäss Reaktion B7) zur Gewinnung der Zwischenverbindung 35 der Borhydridreduktion unterworfen wird. Die Silyl-Alkohol-Schutzgruppe dieser Zwischenverbindung wird (Bedingungen gemäss Reaktion A2) entfernt und die entstandene Diolverbindung der Tosylat-Sulfonat-Transformation zur Gewinnung der Bis(sulfonox)-alkylpyrazinverbindung 36 unterworfen. Die Pyrazinverbindung 37 wird aus dem Olefinsulfonat 13 (R' ist Wasserstoff) durch Kondensation mit dem Carbanion von Methylsulfonsäuremethylester (Bedingungen gemäss Reaktion B4) und folgender Protonierung und Hydrolyse der Estergruppe hergestellt. Alternativ kann die Verbindung 37 durch sequentielle Kondensation des Aldehyds 4 mit zwei Äquivalenten des Carbanions von Methylsulfonsäuremethylester hergestellt werden. Nach Zusatz des ersten Äquivalents wird die entstandene Hydroxylverbindung in situ durch Behandlung mit Säure dehydratisiert, was zur Bildung der Verbindung 13 führt, die wiederum in situ dann mit dem zweiten Äquivalent kondensiert wird.

Die Reaktionen H4 bis H9 zeigen die Herstellung der Dihydroxy-(sulfonox)-alkylpyrazinverbindungen 41 und 43. Das Olefinketon 15 aus der Reaktion C2 wird unter Anwendung der Reaktionsfolge B1, B2 und B3 von Schema B in das Tosylat 38 (Reaktion H4) umgewandelt, wobei das Keton 15 das Aldehyd/Keton (II) der Reaktion B1 ist. Das Tosylat 38 wird mit einem Alkalimetallborhydrid (Reaktion H5, Bedingungen der Reaktion B7) zum Silylolefin 39 reduziert. Das Olefin 39 wird in das Olefinsulfonat 40 (Reaktion H6) durch Abspalten der Silylgruppe (Bedingungen der Reaktion A2) und die Tosylat-Sulfonat-Transformation (Bedingungen der Reaktion A5) umgewandelt. Das Sulfonat 40 wird dann zur Herstellung der entsprechenden Dihydroxy-(sulfonox)-alkylpyrazinverbindung 41 durch Behandlung mit einem Olefinoxidationsmittel (Reaktionsbedingungen gemäss C4) entsprechend der Reaktion H7 oxidiert.

Das Acetalketon 17 ist das Ausgangsmaterial für die Reaktionen H8 und H9 zur Herstellung der Dihydroxy-(sulfonox)-alkylpyrazinverbindung 43. Das Keton 17 wird wie das Aldehyd Keton (II) der Reaktionsfolge B6 von Schema B

zur Herstellung des Olefinsulfonates 42 verwendet. Die katalytische Reduktion der Verbindung 42 unter niedrigem Wasserstoffdruck und Verwendung von Rhodiumchlorid, Platinchlorid, Rutheniumchlorid oder Palladiumchlorid als Katalysator in einem nicht-polaren Lösungsmittel, wie Benzol oder Hexan, und folgender saurer Hydrolyse der Acetalgruppe liefert die Pyrazinverbindung 43.

Die Reaktionen H10 bis H14 zeigen die Synthese der Alkyl-(sulfonoxy)-alkylpyrazinverbindung 46. Das Aldehyd 4 wird durch eine Alkyl-(R⁹)-Grignard-Reaktion und Oxidation des entstandenen Alkohols (Bedingungen der Reaktionen E4, A3) in das Keton 44 (Reaktion H10) umgewandelt. Das Keton 44 wird unter Anwendung der Reaktionsfolge von Schema B in das Tosylat 45a oder das Olefinsulfonat 45b umgewandelt, wobei in den Reaktionen B1 und B6 das Keton 44 als Aldehyd/Keton (II) verwendet wird.

Das Tosylat 45a wird dann durch Alkalimetallborhydrid-Reduktion des Tosylats, Abspaltung der Silylschutzgruppe und Tosylat-Sulfonat-Transformation unter den Bedingungen wie für die Reaktionen B7, A2 und A5 beschrieben in die entsprechende Pyrazinverbindung 46 (Reaktion H13) umgewandelt. Das Tosylat 45b wird auch in die entsprechende Pyrazinverbindung 46 (Reaktion H14) durch katalytische Hydrierung und Hydrolyse wie für die Reaktion H9 beschrieben umgewandelt.

Das Schema I zeigt die Herstellung von multifunktionalen Pyrazinverbindungen, bei welchen X eine Dihydroxyalkylgruppe von 2–3 C-Atomen ist. Die Reaktionen I1 und I2 erläutern die Herstellung der Bis(dihydroxyalkyl)-pyrazinverbindung 48. Das Olefinketon 15 aus der Reaktion C2 wird nach der Reaktionssequenz (Reaktionen C1 und C3) von Schema C in das Olefintosylat 47 umgewandelt, wobei das Keton 15 als Aldehyd/Keton (II) in der Reaktion C1 verwendet wird. Die Alkalimetallborhydrid-Reduktion des Tosylats 47 (Bedingungen von Reaktion B7) und die Olefinoxidation zu Dihydroxygruppen (Bedingungen der Reaktion C4) liefert die Pyrazinverbindung 48 (Reaktion I2).

Die Reaktionen I3 bis I9 erläutern die Herstellung von (Sulfonoxy)-alkyl-dihydroxyalkylpyrazinverbindungen 51 und 53. Das Olefinketon 15 wird nach der Reaktionssequenz (Reaktionen B1, B2) von Schema B in das Tosylat 49 (Reaktion I3) umgewandelt, wobei das Keton 15 als Aldehyd/Keton (II) verwendet wird. Das Tosylat 49 wird dann in das Olefinsulfonat 50 (Reaktion I4) umgewandelt, und zwar durch Alkalimetallborhydrid-Reduktion (Reaktionsbedingungen B7), folgender Silylgruppenabspaltung (Reaktionsbedingungen A2) und Tosylat-Sulfonat-Transformation (Bedingungen gemäss Reaktion A5). Das Sulfonat 50 wird dann mit einem Olefinoxidationsmittel (Reaktion I5, Reaktionsbedingungen C4) zur Bildung der Pyrazinverbindung 51 oxidiert. Das Acetalketon 17 kann in die Pyrazinverbindung 53 dadurch umgewandelt werden, dass man das Keton 17 als Aldehyd/Keton (II) in der Reaktionssequenz von Schema B (Reaktionsbedingungen B6) verwendet, um das Olefinsulfonat 52 zu bilden, das dann katalytisch hydriert und hydrolysiert wird (Reaktion I8, Reaktionsbedingungen H9).

Die Reaktion I9 erläutert die Herstellung der Alkyl-dihydroxyalkylpyrazinverbindung 54. Die Alkyl-(R⁹)-Grignard-Reaktion mit Olefinketon 15 und folgender Tosylatbildung, Tosylatreduktion mit Borhydrid und Olefinoxidation (Reaktionsbedingungen A5, B7 und C4) liefert die Pyrazinverbindung 54.

Das Schema J erläutert die Herstellung von Pyrazinverbindungen, bei welchen X eine (Carboxy)-alkylgruppe von 2–4 C-Atomen ist. Die Reaktionen J1 bis J5 zeigen die Herstellung der (Sulfonoxy)-alkyl- bzw. (Carboxy)-alkylpyrazinverbindungen 58 und 60. Bei den Reaktionen J1 und J2 wird das geschützte Carboxyketon als Aldehyd/Keton (II) in der

Reaktionssequenz von Schema B (Reaktion B1) zur Bildung des Alkohols 56 verwendet, der dann in den Methylester umgewandelt und als Alkohol 8 in der Reaktionsfolge von Schema B (Tosylatreduktion, Reaktionen B3 und B7) zur Bildung des Methylesters 57 verwendet wird. Der Ester 57 wird dann in die Pyrazinverbindung 58 umgewandelt, und zwar durch Silylgruppenabspaltung (Reaktionsbedingungen A2) und Tosylat-Sulfonat-Transformation (Reaktionsbedingungen A5). Sulfonat- und Carboxylatestergruppen können durch Hydrolyse mit Base in die Salzform umgewandelt werden.

In ähnlicher Weise (Reaktionen J4 und J5) wird das Keton 20 in die Pyrazinverbindung 60 umgewandelt, indem man dieses Keton als Aldehyd/Keton (II) in der Reaktionsfolge von Schema B (Reaktion B6) zur Herstellung der Olefinsulfonsäure 59 verwendet, die dann zur Gewinnung der Verbindung 60 hydrolysiert und katalytisch hydriert (Reaktionsbedingungen H9) wird. Die Estergruppe kann durch Hydrolyse mit Base in die Salzform umgewandelt werden.

Die Reaktionen J6 und J7 erläutern die Herstellung der Dihydroxyalkyl-(carboxy)-alkylpyrazinverbindung 62. Das geschützte Carboxyketon 20 wird als Keton (II) in der Reaktionsfolge von Schema C (Reaktion C1) zur Gewinnung des Olefinalkohols 61 verwendet, der dann durch saure Hydrolyse von der Schutzgruppe befreit, tosyliert, mit Alkalimetallborhydrid reduziert (Reaktionsbedingungen C3 und C5) und mit einem Olefinoxidationsmittel (Reaktionsbedingungen C4) zur Bildung der Pyrazinverbindung 62 oxidiert wird.

Die Reaktion J8 erläutert die Herstellung von Alkyl-(carboxy)-alkylpyrazinverbindung 63. Das geschützte Carboxyketon 20 wird mit einem Alkyl-(R⁹)-Grignard-Reagenz umgesetzt, durch saure Hydrolyse von der Schutzgruppe befreit, tosyliert und mit Alkalimetallborhydrid reduziert (Reaktionsbedingungen C3 und C5), wodurch man die Pyrazinverbindung 63 erhält.

Spezielle Synthesen von Pyrazinverbindungen, die auf dem anionisch stabilisierenden Charakter des Pyrazinkerns beruhen, sind in den Schemata K bis M dargestellt. In diesen Schemata und der nachfolgenden Erläuterung wird der trisubstituierte Pyrazinring gemäss der Erfindung durch die Bezeichnung «Pyr» wiedergegeben.

Das Schema K zeigt die Herstellung einer Pyrazinverbindung, die Sulfonsäuregruppensubstitutionen aufweisen, unter Anwendung nucleophiler Reaktionen. Die Substitution eines Brommethylpyrazins mit Mercaptid-Anion in polarem Lösungsmittel und folgende Oxidation mit einem Oxidationsmittel, wie saurem Chromtrioxid oder Permanganat, liefert die Pyrazinylmethylsulfonsäure 64 (Reaktion K1). Die direkte Gewinnung der gleichen Art von Säure, nämlich 1-(Pyrazin-2-yl)-alkylsulfonsäure 65, wird durch nucleophile Substitution von 2-(1-Brom- oder -jodalkyl)-pyrazin mit 1–7 C-Atomen in der Alkylgruppe mit Sulfitanion in polarem Lösungsmittel und folgender Aufarbeitung unter sauren Bedingungen (Reaktion K2) erzielt.

Die Pyrazinstabilisierung eines in situ erzeugten Carbanions wird in Reaktion K3 zur Herstellung von 2-(Pyrazinyl)-ethansulfonsäure oder 2-(Pyrazinyl)-1-(alkyl)-ethylsulfonsäure 66 durch Kondensation von 2-(1-Alkenyl)-pyrazin mit Sulfitanion in polarem Lösungsmittel und folgender Aufarbeitung unter sauren Bedingungen angewendet.

Die Kondensation eines zyklischen Sultons, das 3–6 Methylengruppen enthält, mit Pyrazinylmethylnatrium, das in situ aus Methylpyrazin und Natriumamid in Ammoniak erzeugt ist, liefert Omega-(Pyrazinyl)-alkylsulfonsäure 67, die 3–6 C-Atome in der Alkylgruppe besitzt (Reaktion K4).

Schliesslich liefert die nucleophile Substitution am Pyrazinkern von Chlor- oder Brompyrazin unter Verwendung von Sulfitanion in Wasser die Pyrazinsulfonsäure 68, und

zwar wiederum nach Aufarbeitung unter sauren Bedingungen (Reaktion K5).

Das Schema L erläutert die Herstellung von Hydroxyalkylpyrazinverbindungen. Bei diesen Herstellungswegen werden verschiedene Methoden angewendet. Unter den Bedingungen der Reaktion C4 liefert die olefinische Oxidation von (But-1-en-4-yl)-pyrazin, das durch Kondensation von Alkylbromid und Pyrazinylmethylnatrium erzeugt ist, das (3,4-Dihydroxybutyl)-pyrazin 69 (Reaktion L1). Die Kondensation von Methylpyrazin mit Paraformaldehyd liefert 2-(2-Hydroxyethyl)-pyrazin 70 (Reaktion L2), während die Kondensation mit einem Alkylaldehyd in Base das 2-(2-Alkyl-2-hydroxyethyl)-pyrazin (Reaktion L3) liefert. In ähnlicher Weise wird durch Kondensation des basisch erzeugten Anions von Methylpyrazin mit einem Ester einer Alkylcarbonsäure, die 1-6 C-Atome in dem Alkylteil enthält, die Ketonzwischenverbindung 72 erhalten, die mit Natriumborhydrid oder einem ähnlichen Hydrid-Reduktionsmittel zur Gewinnung des Pyrazins 71 (Reaktion L4) reduziert werden kann.

Die nucleophile Substitution von (1-Bromalkyl)-pyrazin mit Hydroxid liefert (1-Hydroxyalkyl)-pyrazin 73 (Reaktion L5). Hydroxymethylpyrazin 74 kann aus Methylpyrazin durch Oxidation mit Wasserstoffperoxid und folgender Behandlung mit dem Anhydrid einer organischen Säure sowie Hydrolyse mit Base (Reaktion L6) hergestellt werden.

Das Schema M erläutert eine spezielle Synthese einer Pyrazinylpropionsäure. Methylpyrazin-Anion wird mit Trichloracetaldehyd kondensiert, worauf mit Base (Hydroxid) umgesetzt und zur Gewinnung von 3-(Pyrazinyl)-acrylsäure 75 angesäuert wird. Diese Säure wird dann katalytisch über Palladium/Holzkohle zur Gewinnung von 3-(2-Pyrazinyl)-propionsäure 76 hydriert.

Das Schema N erläutert die zweite Phase der Gesamtsynthese, nämlich die Monoquaternisierung. Wenn die quaternisierende Gruppe eine Alkylgruppe ist, kann man im allgemeinen das entsprechende Alkylbromid oder -jodid mit der entsprechenden Pyrazinverbindung zur Quaternisierung eines Pyrazinkerns (Reaktion N1) umsetzen. Wenn die Pyrazinverbindung in Position R³ monosubstituiert ist, führt dieser Prozess zur Quaternisierung des Stickstoffatoms in der

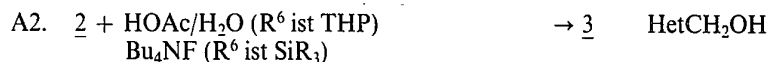
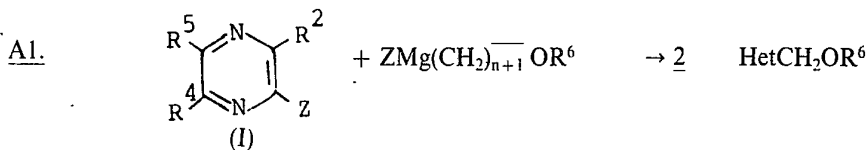
Meta-Stellung relativ zu R³. Bei anderen Substitutionswegen bestimmt die sterische Anordnung das Stickstoffatom im Pyrazin, welches quaternisiert wird. Wenn daher mehrere Substituenten vorhanden sind, z.B. R², R³, R⁴ und R⁵, können Mischungen entstehen, die durch Säulenchromatographie, Hochdruckchromatographie oder ähnlichen Methoden voneinander getrennt werden können.

Wenn die monoquaternisierende Gruppe ausserdem mit einer Carboxyl- oder Sulfonylgruppe funktionalisiert ist, kann die entsprechende Pyraziniumverbindung nach den in den Reaktionen N2 bis N5 erläuterten Reaktionen hergestellt werden. Die Kondensation der geeigneten Pyrazinverbindung mit Methylvinylsulfonat oder Acrylsäure liefert die entsprechende 1-(2-Sulfonyl-ethyl)-pyrazinium-hydrobromid-Verbindung 78 oder die 1-(2-Carboxyethyl)-pyrazinium-hydrobromid-Verbindung 80 (Reaktionen N2 und N4). In gleicher Weise liefert die Kondensation der entsprechenden Pyrazinverbindung mit einem Sulton von 3-6 C-Atomen die entsprechende 1-(Omega-Sulfonylalkyl)-pyraziniumverbindung 79 (Reaktion N3). Schliesslich liefert die Kondensation von Methyl-omega-jodalkylsulfonat oder -carboxylat, das 1-3 C-Atome im Alkylteil aufweist, mit der entsprechenden Pyrazinverbindung nach Hydrolyse der Estergruppe die 1-[Omega-(Sulfonyl- oder -Carboxy)-alkyl]-pyraziniumverbindung 81 (Reaktion N5).

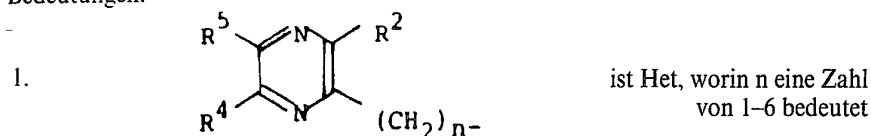
Isolation, Reinigung und Aufarbeitung der Pyrazinzwischenverbindungen, der Pyrazinverbindungen und der Pyraziniumverbindungen gemäss Schemata A bis N können nach an sich bekannten Methoden erzielt werden. Hierzu gehört die Neutralisation mit geeigneten Säuren oder Basen, die Extraktion mit wässrig/organischen Lösungsmittelsystemen, die Trennchromatographie oder Gelpermeation-Säulenchromatographie auf Trägern, wie Silicagel, Polyamid, Polyacrylamid, Ionenaustauschharz, vernetztem gequollenem Dextrin-Gel («Sephadex»), Celit und dergleichen, Hochdruckflüssigchromatographie unter Verwendung der bekannten stationären Träger, Kristallisationsmethoden, Vakuumdestillation, Sublimation und dergleichen. Ferner kann man soweit zweckmässig oder erforderlich unter Feuchtigkeitsausschluss bzw. mit trockenen Lösungsmitteln arbeiten.

Schema A

Synthese von «Synthon» 4 und monofunktionelle Produkte

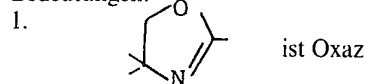


Bedeutungen:





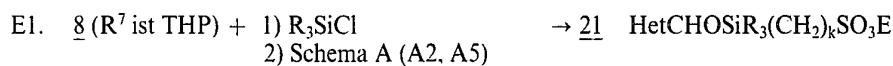
Bedeutungen:



2. m ist 1–3

Schema E

Synthese von Pyrazinverbindungen mit X als Hydroxyl



Schema F

Synthese von Pyrazinverbindungen mit X als Carboxyl



Schema G

Synthese von Pyrazinverbindungen mit X als Sulfonylgruppe



Schema H

Synthese von Pyrazinverbindungen mit X als (Sulfonoxyl)-alkylgruppe mit 2–3 C-Atomen

- H1. 7 + 1) 2M von (III)
2) Schema B (B3, B7) → 35 $\text{HetCH}[(\text{CH}_2)_k\text{OSiR}_3]_2$
- H2. 35 + Schema A (A2, A5) → 36 $\text{HetCH}[(\text{CH}_2)_k\text{SO}_3\text{E}]_2$
- H3. 13 (R' ist H) + 1) $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{Me}/\text{NaH}$
2) Hydrolyse → 37 $\text{HetCH}[\text{CH}_2\text{SO}_3\text{E}]_2$
- H4. 15 + Schema B (Ba) → 38 $\text{HetCOTs}(\text{CH}_2)_k\text{OSiR}_3$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CH}=\text{CHR}^8$
- H5. 38 + Schema B (B7) → 29 $\text{HetCH}(\text{CH}_2)_k\text{OSiR}_3$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CH}=\text{CHR}^8$
- H6. 39 + Schema A (A2, A5) → 40 $\text{HetCH}(\text{CH}_2)_k\text{SO}_3\text{E}$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CH}=\text{CHR}^8$
- H7. 40 + Schema C (C4) → 41 $\text{HetCH}(\text{CH}_2)_k\text{SO}_3\text{E}$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CHOHCHR}^8\text{OH}$
- H8. 17 + Schema B (B6) → 42 $\text{HetC}=\text{CHSO}_3\text{Me}$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CHCHR}^8$
 $\quad\quad\quad | \quad |$
 $\quad\quad\quad \text{O} \quad \text{O}$
- H9. 42 + 1) $\text{H}_2/\text{Katalysator}$
2) Säure → 43 $\text{HetCHCH}_2\text{SO}_3\text{E}$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CHOHCHR}^8\text{OH}$
- H10. 4 + 1) R^9MgZ
2) Oxidation → 44 HetCOR^9
- H11. 44 + Schema B (B1, B3) → 45a $\text{HetCR}^9\text{OTs}(\text{CH}_2)_k\text{OSiR}_3$
- H12. 44 + Schema B (B6) → 45b $\text{HetCR}^9=\text{CHSO}_3\text{Me}$
- H13. 45a + Schema B (B7)
Schema A (A2, A5) → 46 $\text{HetCR}^9(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3\text{E}$
- H14. 45b + 1) $\text{H}_2/\text{Katalysator}$
2) Säure

Schema I

Synthese von Pyrazinverbindungen mit X als Dihydroxyalkylgruppe von 2–3 C-Atomen

- I1. 15 + Schema C (C1, C3) → 47 $\text{HetCOTs}[(\text{CH}_2)_l\text{CH}=\text{CHR}^8]_2$
- I2. 47 + Schema C (C5, C4) → 48 $\text{HetCH}[(\text{CH}_2)_l\text{CHOHCHR}^8\text{OH}]_2$
- I3. 15 + Schema B (B1, B3) → 49 $\text{HetCOTs}(\text{CH}_2)_k\text{OSiR}_3$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CH}=\text{CHR}^8$
- I4. 49 + Schema B (B7)
Schema A (A2, A5) → 50 $\text{HetCH}(\text{CH}_2)_k\text{SO}_3\text{E}$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad (\text{CH}_2)_l\text{CH}=\text{CHR}^8$

- | | | |
|---|-------------|--|
| 15. <u>50</u> + Schema C (D4) | → <u>51</u> | HetCH(CH ₂) _k SO ₃ E

(CH ₂) _j CHOHCHR ³ OH |
| 16. <u>17</u> + Schema B (B6) | → <u>52</u> | HetC=CHSO ₃ Me

(CH ₂) _j CHCHR ⁸ |
| 17. <u>52</u> + Schema H (H9) | → <u>53</u> | HetCHCH ₂ SO ₃ E

(CH ₂) _j CHOHCHR ⁸ OH |
| 18. <u>15</u> + R ⁹ MgZ
Schema C (C3, C5, C4) | → <u>54</u> | HetCHR ⁹ (CH ₂) _j CHOHCHR ⁸ OH |

Schema J

Synthese von Pyrazinverbindungen mit X als (Carboxy)-alkylgruppe von 2–4 C-Atomen

- | | | |
|--|-------------|--|
| J1. <u>20</u> + Schema B (B1) | → <u>56</u> | HetCOH(CH ₂) _k OSiR ₃

(CH ₂) _m Oxaz |
| J2. <u>56</u> + 1) MeOH/HCl
2) Schema B (B3, B7) | → <u>57</u> | HetCH(CH ₂) _k OSiR ₃

(CH ₂) _m CO ₂ Me |
| J3. <u>57</u> + Schema A (A2, A5) | → <u>58</u> | HetCH(CH ₂) _k SO ₃ E

(CH ₂) _m CO ₂ E |
| J4. <u>20</u> + Schema B (B6) | → <u>59</u> | HetC=CHSO ₃ Me

(CH ₂) _m Oxaz |
| J5. <u>59</u> + MeOH/HCl, Schema H (H9) | → <u>60</u> | HetCHCH ₂ SO ₃ E

(CH ₂) _m CO ₂ E |
| J6. <u>20</u> + Schema C (C1) | → <u>61</u> | HetCOH(CH ₂) _j CH=CHR ⁸

(CH ₂) _m Oxaz |
| J7. <u>61</u> + MeOH/HCl
Schema C (C3, C5, C4) | → <u>62</u> | HetCH(CH ₂) _j CHOHCHR ⁸ OH

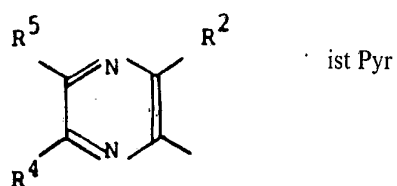
(CH ₂) _m CO ₂ E |
| J8. <u>20</u> + 1) R ⁹ MgZ, 2) MeOH/HCl
3) Schema B (B3, B7) | → <u>63</u> | HetCHR ⁹ (CH ₂) _m CO ₂ E |

Schema K

Spezielle Synthese von Pyrazinsulfonsäuren

- | | | |
|--|-------------|--|
| K1. PyrCH ₂ Br + 1) NaSH
2) KMnO ₄ | → <u>64</u> | PyrCH ₂ SO ₃ E |
| K2. PyrCHR ¹⁰ Br + Na ₂ SO ₃ /Säure
(R ¹⁰ ist Alkyl von 1–6
C-Atomen, Wasserstoff) | → <u>65</u> | PyrCHR ¹⁰ SO ₃ E |
| K3. PyrCH=CHR ¹⁰ + Na ₂ SO ₃ | → <u>66</u> | PyrCH ₂ CHR ¹⁰ SO ₃ E |
| K4. PyrCH ₃ + (CH ₂) _n SO ₃ | → <u>67</u> | PyrCH ₂ (CH ₂) _n SO ₃ E |
| K5. Pyr-Z + Na ₂ SO ₃ | → <u>68</u> | PyrSO ₃ E |

Bedeutungen:

*Schema L*

Spezielle Synthese von Pyrazinalkoholen

- | | | |
|---|----------------------------|---|
| L1. Pyr(CH ₂) ₂ CH=CH ₂ + Olefin
Oxidationsmittel | → <u>69</u> | Pyr(CH ₂) ₂ CHOHCH ₂ OH |
| L2. PyrCH ₃ + (CH ₂ O) _n | → <u>70</u> | Pyr(CH ₂) ₂ OH |
| L3. PyrCH ₃ /Base + R ¹⁰ CHO | → <u>71</u> | PyrCH ₂ CHR ¹⁰ OH |
| L4. PyrCH ₃ + R ¹⁰ CO ₂ Me/Base
<u>72</u> + NaBH ₄ | → <u>72</u>
→ <u>71</u> | PyrCH ₂ COR ¹⁰
PyrCH ₂ CHR ¹⁰ OH |
| L5. PyrCHBr + K ₂ CO ₃ /H ₂ O/MeOH | → <u>73</u> | PyrCHROH |
| L6. PyrCH ₃ + 1) H ₂ O ₂
2) Ac ₂ O
3) NaOH | → <u>74</u> | PyrCH ₂ OH |

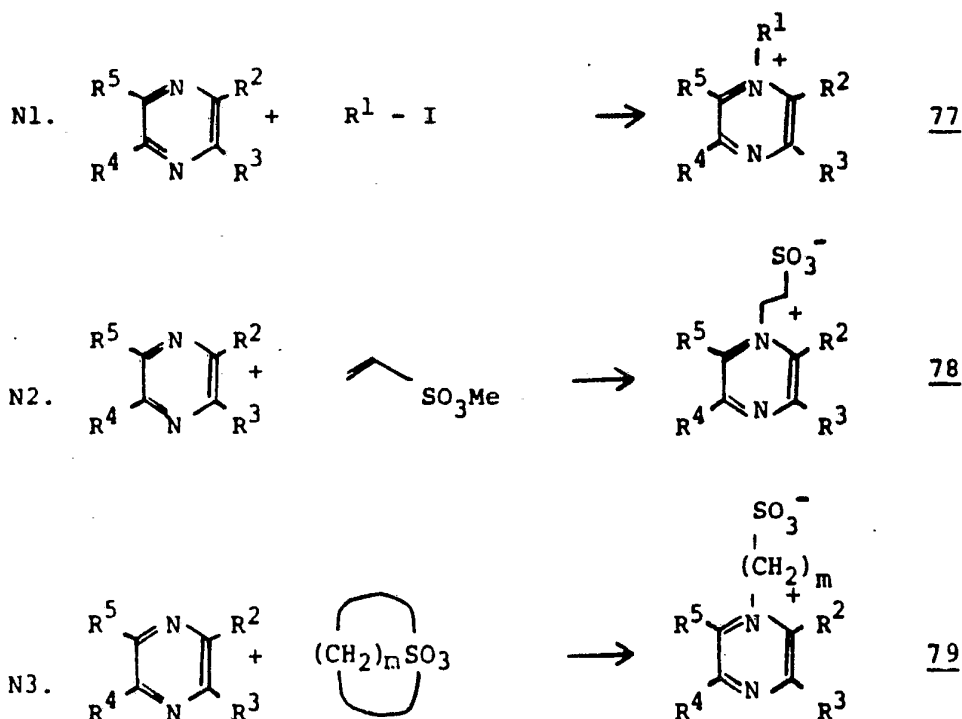
Schema M

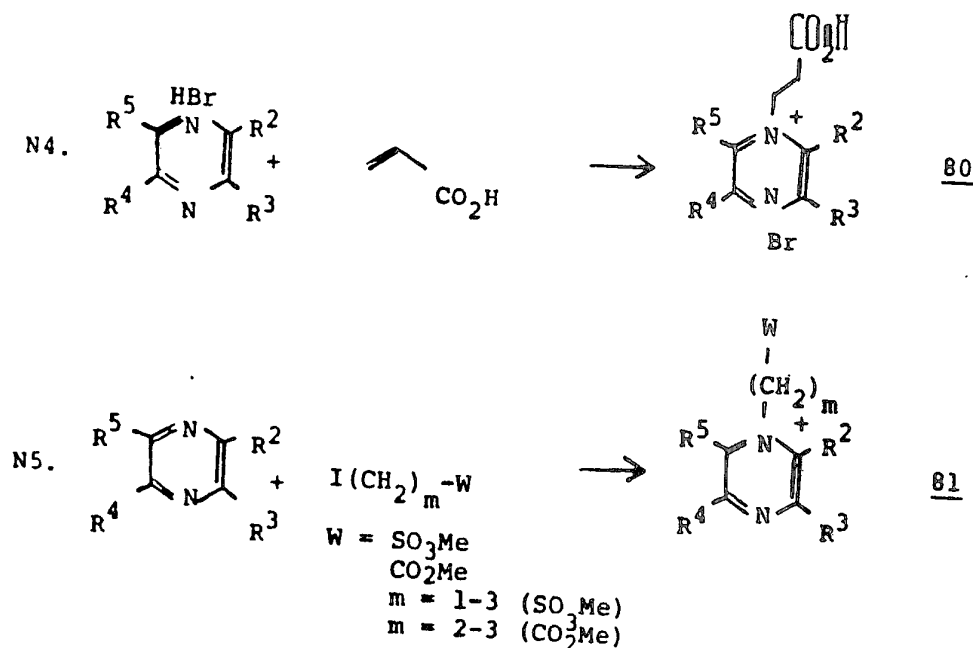
Spezielle Synthese von Pyrazincarbonsäuren

- | | | |
|---|-------------|--|
| M1. PyrCH ₃ + 1) CCl ₃ CHO
2) NaOH | → <u>75</u> | PyrCH=CHCO ₂ H |
| <u>75</u> + H ₂ /Katalysator | → <u>76</u> | PyrCH ₂ CH ₂ CO ₂ H |

Schema N

Synthese von monoquaternisierten Pyraziniumverbindungen





Die Pyraziniumverbindungen gemäss der Erfindung sind als Elektronenträger in fotolytischen Systemen brauchbar. Sie können «hochenergetische» Elektronen von einer fotoaktivierenden Quelle zu einem Katalysator übertragen, der die hochenergetischen Elektronen in einer reduktiven Reaktion mit Wasser oder Stickstoff verwenden könnte. Dementsprechend sind sie für die Herstellung von Ammoniak, Wasserstoff und Sauerstoff brauchbar.

Die Pyraziniumverbindungen sind auch als Träger für die Stimulierung der Ammoniakproduktion durch Stickstoff-fixierende Bakterien geeignet, welche mit Leguminosen assoziiert sind. Sie können an den Stoffwechselprozessen der Bakterien teilnehmen und übertragen mit hohem Wirkungsgrad Energie vom Wirt zu den Mitochondrien, was deren Stickstofffixierung erleichtert.

Im allgemeinen zeigt sich, dass ein fotolytisches in vitro System von Chloroplasten, Pyraziniumverbindung, geeignetem Lösungsmittel, wie Wasser, und Katalysator, wie Nitrogenase, in einem geeigneten System zur Isolierung gasförmiger Produkte unter Ausschluss von reduktiven Kurzschlüssen und Minimalisierung atmosphärischer Interferenz als ein Wasserstoff- oder Ammoniak-Produktionssystem wirken kann. Die Chloroplasten können aus entsprechenden pflanzlichen Quellen, wie Spinat oder Chenopodiumblättern, isoliert werden und werden zweckmässig in einem Gefäss vorgelegt, welches die Absorption von Licht entsprechender Wellenlängen durch die Chloroplasten zulässt. Obwohl ein solches System bevorzugt wird, kann man auch synthetisches lichtempfindliches Material verwenden, das fotoerregte Elektronen erzeugt. Beispiele hierfür sind Ruthenium-, Molybdän- oder Eisenkoordinationskomplexe, wie Bipyridyl- oder Prophyrinkomplexe, siehe Kirsh et al. *Helv. Chim. Acta*, 62, 1345 (1979).

Beim bevorzugten Verfahren kann ein geeignetes System für Nitrogenasekatalysator und Chloroplasten ausgelegt werden, wie dies in der Literatur beschrieben ist, siehe z.B. M. Calvin in «Living Systems as Energy Converters», North Holland Publishing, Amsterdam, 1977, Seiten 231-259; Seibert et al. *Sol. Energy Res. Inst. (Tech. Rep.) SERI/JP-33-410* (1979), Benemann et al. *Enzyme Microb. Technol.*, 2 103 (1980) und L. O. Krampitz, NSF-RANN Report No. HA2 N-73-014. Obwohl einstufige Systeme verwendet werden können, sind Zweistufensysteme bevorzugt. In solchen Systemen können die Chloroplasten, Wasser und Pyraziniumverbindung in ein Glasgefäss gebracht werden, das

mit einem Wassereinlass und Kühlung ausgerüstet ist. In diese wässrige Mischung kann dann ein kleineres Gefäss eingeführt werden, das eine oberseitige Öffnung und eine bodenseitige oder seitliche Öffnung besitzt, welche mit einer semipermeablen Membran abgedeckt ist, z.B. einer solchen aus Cellulose oder einem anderen Dialysematerial, welches kleine Moleküle passieren lässt, grosse Moleküle aber zurückhält. Das kleinere Gefäss kann eine wässrige Mischung von reduktivem Katalysator, wie Nitrogenase, und Pyraziniumverbindung enthalten. Die oberseitige Öffnung kann mit Gaseinlass- und -auslassröhren ausgerüstet sein, welche eine direkte Einwirkung der Atmosphäre auf die wässrige reduktive Katalysatormischung vermeiden und die Anwendung der entsprechenden Reaktionsgase gestattet. Die Röhren können auch dazu dienen, das gasförmige Produkt der Lagerung zuzuführen. Durch Einwirkung von Licht wird die fotolytische Reaktion der Chloroplasten initiiert, wodurch reduzierte Pyraziniumverbindung gebildet wird. Die Diffusion der reduzierten Verbindung durch die Membran kann die katalytische Produktion des entsprechenden Produktes auslösen, nämlich Wasserstoff, wenn weder Stickstoff noch Kohlendioxid vorhanden ist, sonst Ammoniak.

Hohe Diffusionsraten des Elektronenträgers durch die Membran gelten als wichtig, weil dies eine effiziente Kopplung mit dem Enzym begünstigt. Es kann auch vorteilhaft sein, der Enzymphase Ferredoxin zuzugeben, weil dieser Stoff als intermediäres Kopplungsmittel dienen kann. Es wird angenommen, dass eine innige und rasche Kopplung des Chlorophylls und des Enzyms durch den Trägertransfermechanismus für die Effizienz des Zweiphasensystems bedeutsam sein kann.

Das niedrige Molekulargewicht und die geringe Grösse der erfindungsgemässen Pyraziniumverbindungen gestattet die praktische Verwendung des Zweistufensystems. Dabei können bekannte semipermeable Membranen verwendet werden, während mit Elektronenträgern auf Proteinbasis, wie Ferredoxin, solche Membranen den Durchgang des Trägers verhindern. Da die Pyraziniumverbindungen in grossen Mengen erzeugt werden können, sind entsprechend grosse Systeme wirtschaftlich realisierbar.

Die Aktivität der Pyraziniumverbindungen als Elektronenträger in einem Fotokopplungsprozess unter Lichteinstrahlung mit Verwendung isolierter Chloroplasten und des reduktiven Enzymkatalysators Nitrogenase wurde nach dem Biotest von Benemann et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 64,

1079 (1969), bestimmt. Bei dieser Methode wird die Trägeraktivität gemessen als Funktion der Nitrogenasereduktion von Acetylen zu Ethylen, wobei die Ethylenproduktionsrate das direkte Mass liefert.

Zur Durchführung des Biotests wurde die Nitrogenaseprobe aus einer Kultur von *Azotobacter vinelandii* hergestellt, die mit einer Zelldichte von etwa 1 g/Liter kultiviert worden war. Die durch Zentrifugieren abgetrennten Zellen wurden in einer Presse nach French aufgebrochen, die Zellreste während einer Stunde bei 10 000-G abzentrifugiert und die überstehende, 40 mg/ml Protein enthaltende Flüssigkeit in den Biotestversuchen verwendet. Ferner wurden die von Benemann ebenfalls beschriebenen, durch Wärme inaktivierten Chloroplasten von Spinatblättern verwendet. Die synthetischen Träger wurden in wässriger Lösung bei Konzentrationen von 2 mM getestet; als Bezugssubstanz wurde clostridiales Ferredoxin in Form einer 0,2 mM wässrigen Lösung verwendet. Die Konzentrationen der Träger in den Versuchsmischungen wurden so gewählt, dass eine Trägersättigung sichergestellt war. Auf diese Weise wurden die beobachteten Differenzen der Ethylenproduktionsraten aus dem als Substrat verwendeten Acetylen direkt in Beziehung gesetzt zu Veränderungen der Effizienz des Elektronentransfers von den belichteten Chloroplasten auf die Nitrogenase. Die für Acetylenreduktion (Stickstofffixierung) erhaltenen Ergebnisse unter Verwendung von Pyraziniumverbindungen der Beispiele 1–42 sind in Tabelle I zusammengestellt und als nM (Nanomol) erzeugtes Ethylen pro Milligramm Protein pro Minute ausgedrückt. Diese Ergebnisse zeigen auch die Grenzen der Aktivität als Funktion der chemischen Struktur der Pyraziniumverbindung.

Es liegen Berichte darüber vor, dass das Nitrogenasesystem aus zwei dissoziierenden Proteinkomponenten besteht, von denen keine eine eigene Aktivität besitzt, siehe L. E. Mortenson et al. Ann. Rev. Biochem., 48, 387 (1979). Die erste Komponente wird als Eisenprotein bezeichnet und hat ein Molekulargewicht von 57 000, wobei vier Eisenatome und vier säurelabile Schwefelatome jeweils in einem Eisen/Schwefel-Cluster angeordnet sind. Die zweite Komponente, das Molybdän/Eisen-Protein, ist wesentlich komplexer als das Eisenprotein. Es hat ein Molekulargewicht von etwa 240 000 und enthält zwei Molybdänatome, 28–32 Eisenatome und etwa 28 säurelabile Schwefelatome. Die Elektronen werden von den reduzierten Formen entsprechender Elektronenträger (wie Ferredoxine und Flavodoxine in den in vivo-Systemen) an das Eisenprotein geliefert, und zwar in einem Reduktionsprozess mit einem Elektron, wobei 2 Mol Adenosintriphosphat pro 1 Faraday (1 Faraday = 1 Mol Elektronen = 96 493 Coulomb), das übertragen wird, verbraucht werden. Die Elektronen werden dann intramolekular von dem Eisenprotein auf das Molybdän/Eisen-Protein übertragen, welches letzteres als Vorrat für Elektronen dient und diese jeweils mit dem Faktor 2 den Substraten zuführt.

Die natürlichen Elektronenträger für Nitrogenase haben Mittelwertpotentiale im Bereich von –495 mV für Flavodoxin von *Azotobacter vinelandii* bis –570 mV für Ferredoxin von *Clostridium pasteurianum*, aber über die tatsächlichen Redoxpotentiale, die für eine optimale Ausnutzung der Nitrogenase erforderlich sind, ist wenig bekannt. Die Redox-Titration von Nitrogenase aus *Azotobacter vinelandii* mit dem Paar $\text{SO}_3^{2-}/\text{SO}_4^{2-}$ hat gezeigt, dass das Eisenprotein bei einem Mittelwertpotential von –413 mV bei pH 7,0 eine Ein-Elektronenreduktion erleidet, siehe A. Braaksma et al. Eur. J. Biochem., 121, 483 (1982).

Hochgereinigte Zubereitungen der Nitrogenase zeigen spezifische Aktivitäten von 3000 nM Ethylen, gebildet pro Milligramm Protein pro Minute (siehe eben genannte Litera-

turstelle), und zwar unter Verwendung von Natriumdithionit als Reduktionsmittel.

Die für die vorliegenden Untersuchungen verwendeten rohen Nitrogenasezubereitungen lieferten unter ähnlichen Bedingungen Werte von 67 nM $\text{C}_2\text{H}_4/\text{mg Protein/min}$. Dieser Wert entspricht einem Gehalt von 2,2% Nitrogenase auf Proteinbasis.

Man weiss seit einiger Zeit, dass zwischen dem Wasserstoffmetabolismus und der Stickstofffixierung irgendeine Beziehung besteht. Die Beobachtung von Biosystemen mit aktiver Stickstofffixierung zeigt, dass dabei Wasserstoff entwickelt wird und dass Wasserstoff die Stickstofffixierung inhibiert. Wenn die Nitrogenase wie oben erwähnt weitgehend gereinigt wird, zeigt sich, dass die Nitrogenase bei Stickstoffaddition auch die Reduktion von Protonen katalysiert. Die Entwicklung von Wasserstoff ist bei Abwesenheit von normalen Nitrogenase-Substraten (Stickstoff, Acetylen, Cyanid, Azid, usw.) besonders aktiv und abhängig von einem starken Reduktionsmittel und der Adenosintriphosphat-Hydrolyse. Da die Wasserstoffentwicklung nicht durch CO inhibiert wird, wohl aber die Reduktion von Stickstoff und anderen Substraten, verläuft die Reduktion der Protonen wahrscheinlich an einer anderen Stelle als derjenigen der Stickstoffreduktion, siehe H.C. Winter et al. Ann. Rev., Biochem., 45, 409 (1976). Dementsprechend wurde mit dem gleichen Biotestsystem unter Stickstoffausschluss mit Acetylen die Aktivität der Pyraziniumverbindungen als Träger für die Wasserstoffherzeugung bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle II zusammengestellt und zeigen, dass die Pyraziniumsalze, welche die Reduktion von Acetylen mit Elektronen aus den fotoerregten Chloroplasten vermitteln, auch die Reduktion von Protonen durch die Nitrogenase vermitteln.

Die Bewertung der Pyraziniumsalze sowohl bezüglich der Aktivitäten als auch im Verhältnis zur Aktivität von Ferredoxin ist in Tabelle III dargestellt. Die Daten deuten daraufhin, dass die Nitrogenase eine strengere Strukturselektivität für die Träger in Gegenwart von Substrat (Acetylen) hat, als in Abwesenheit des Substrates. Es zeigt sich jedoch, dass für beide Prozesse im wesentlichen eine Äquivalenz der Struktur/Aktivitäts-Beziehungen besteht. Beispielsweise sind von den zehn Pyrazinen, die bezüglich Reduktion von Acetylen am aktivsten sind, deren sieben in der Gruppe der für die Stickstoffentwicklung aktivsten Pyrazine.

In thermodynamischer Hinsicht muss ein wirksamer Träger für das in Frage stehende System zwischen einer oberen Grenze des Reduktionspotentials, welches durch das negative Potential der belichteten Chloroplasten (–610 mV) bestimmt ist, und einem unteren Energiewert wirken, welcher dem Redoxpotential des Adenosintriphosphat-aktivierten Eisenproteins entspricht; es wurde gefunden, dass dieser letztgenannte Wert –473 mV beträgt. Für clostridiales Ferredoxin wurde dies bestätigt (Chien. J. Pharm. Sci., 65, 1471 (1976)), indem diese Substanz mit einem Halbwertenpotential von –570 mV bei pH 7,52 arbeitet. Aus diesem Grunde war die polarografische Messung der Halbwertenpotentiale der verschiedenen untersuchten Pyraziniumsalze von Interesse, um die möglichen Effekte der Struktur auf die Redoxpotentiale der Verbindungen zu bestimmen. Frühere polarografische Untersuchungen von L. Rouiller et al. Electrochimica Acta, 25, 795 (1980) haben gezeigt, dass monoquaternäre Pyrazine in zwei Wellen von 1F reduziert werden. Die erste Welle entspricht einer Ein-Elektronenreduktion und liefert ein relativ stabiles Radikal, das in einer zweiten Welle zum Dihydropyrazin (Zwei-Elektronenreduktionsprodukt) reduziert wird. Die meisten der untersuchten Pyraziniumsalze zeigten ein Zweiwellenprofil, obwohl einige von ihnen nur ein Einwellenprofil aufwiesen.

In Tabelle IV sind die Halbwellenpotentiale (E1/2 gegen SCE) für die Reduktion in der ersten Welle, polarografisch gemessen in 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,55 bei 25 °C, wobei die Pyraziniumsalze in bezug auf ihre Aktivität für die Acetylenreduktion im Biotest bewertet wurden. Auf Basis dieser Data kann man sagen, dass zwischen den Redoxpotentialen und der Kofaktoraktivität bei Nitrogenase offensichtlich keine Beziehung besteht. Es ist wahrscheinlich, dass die Bioaktivitätsunterschiede der untersuchten Pyraziniumsalze mit Änderungen der chemischen Struktur in Beziehung stehen, welche die Kofaktor/Enzym-Wechselwirkung und -Bindung beeinflussen.

Tabelle I

Elektronenträger-Aktivität von synthetischen Pyraziniumverbindungen gegen Nitrogenase, gemessen durch Chloroplast-gekoppelte Reduktion von Acetylen zu Ethylen

Elektronenträger Verbindung Nr.	Aktivität	Aktivität gegenüber Ferredoxin (%)
Clostridiales Ferredoxin	(nMol C ₂ H ₄ /mg Protein/min)	
	13,5	100
700	14,0	104
400	3,5	26
500	3,0	22
300	5,5	41
200	2,3	17
2600	13,2	98
2400	14,2	105
3000	13,4	99
3200	13,3	98
2000	8,3	61
2800	8,3	61
600	8,7	64
1200	14,5	107
800	6,8	50
2200	7,5	55
3400	2,7	20
3500	0,7	5
1700	4,5	33
3700	4,2	31
1000	12,8	95
4200	0,1	1
4100	14,8	110
1500	5,5	41
1801	10,7	79
1800	16,7	124
3901	3,0	22
3900	3,7	27
4000	3,8	28
3800	2,0	15
4300	0,7	5
4400	0,0	0
4500	0,0	0
4600	0,0	0
4700	0,7	5
4800	0,2	1
4900	0,3	2
5000	0,0	0
5100	1,8	13
5200	0,0	0

Tabelle II

Elektronenträger-Aktivität von synthetischen Pyraziniumverbindungen gegen Nitrogenase, gemessen durch Chlo-

roplast-gekoppelte Wasserstoffentwicklung in Abwesenheit von Substrat

Elektronenträger Verbindung Nr.	Aktivität	Aktivität gegen- über Ferredoxin (%)
Clostridiales Ferredoxin	(nMol H ₂ /mg Protein/min)	
	26,7	100
700	19,7	74
400	19,7	74
500	12,3	46
300	8,1	30
200	17,2	64
2600	41,2	154
2400	34,1	128
3000	33,1	124
3200	43,1	161
2000	26,6	100
2800	37,3	140
600	28,4	106
1200	38,1	143
800	7,5	28
2200	26,2	98
3400	29,7	111
3500	5,0	19
1700	16,6	62
3700	8,6	32
1000	19,5	73
4200	1,6	6
4100	19,4	73
1500	22,9	86
1801	28,4	106
1800	34,4	129
3901	6,9	26
3900	11,9	45
4000	9,5	36
3800	5,8	22
4300	3,7	14
4400	0,0	0
4500	0,0	0
4600	0,0	0
4700	1,4	5
4800	1,4	5
4900	2,2	8
5000	0,0	0
5100	2,8	10
5200	0,0	0

Tabelle III

Reihenfolge von synthetischen Pyraziniumverbindungen nach deren Elektronenträger-Aktivität gegen Nitrogenase, ausgedrückt als prozentuale Aktivität relativ zu Clostridial-Ferredoxin

Ethylenbildung Verbindung Nr.	Ferredoxin- Aktivität (%)	Verbindung	Ferredoxin- Aktivität (%)
1800	124	3200	161
4100	110	2600	154
1200	107	1200	143
2400	105	2800	140
700	104	1800	129
Ferredoxin	100	2400	128
3000	99	3000	124
2600	98	3400	111

Ethylenbildung Verbindung Nr.	Ferredoxin- Aktivität (%)	Verbindung	Ferredoxin- Aktivität (%)
3200	98	600	106
1000	95	1801	106
1801	79	2000	100
600	64	Ferredoxin	100
2000	61	2200	98
2800	61	1500	86
2200	55	700	74
800	50	400	74
300	41	1000	73
1500	41	4100	73
1700	33	200	64
3700	31	1700	62
4000	28	500	46
3900	27	3900	45
400	26	4000	36
500	22	3700	32
3901	22	300	30
3400	20	800	28
200	17	3901	26
3800	15	3800	22
5100	13	3500	19
3500	5	4300	14
4300	5	5100	10
4700	5	4900	8
4900	2	4200	6
4800	1	4700	5
4200	1	4800	5
4400	0	4400	0
4500	0	4500	0
4600	0	4600	0
5000	0	5000	0
5200	0	5200	0

Tabelle IV

Korrelation zwischen Redoxpotentialen und Bioaktivität (als % Ferredoxin) im Chloroplast/Nitrogenase-Versuch für Acetylenreduktion; E1/2 sind polarografische Werte, gemessen in 0.1 M Phosphatpuffer, pH 7,55 bei 25 °C

Verbindung Nr.	Ferredoxin- Aktivität (%)	E1/2 gegen SCE (mV)
1800	124	-683
4100	110	-720
1200	107	-699
2400	105	-701
700	104	-700
Ferredoxin	100	-570
3000	99	-738
2600	98	-730
3200	98	-673
1000	95	-710
1801	79	-676
600	64	-651
2000	61	-573
2800	61	-690
2200	55	-704
800	50	-625
300	41	-683
1500	41	-683
1700	33	-715
3700	31	-701
4000	28	-685
400	26	-738

500	22	-751
3901	22	-685
3400	20	-680
200	17	-699
5 3800	15	-681
5100	13	-597
3500	5	-575
4300	5	-696
4700	5	-611
10 4900	2	-700
4200	1	-798
4800	1	-655
4400	0	-613
4500	0	-390
15 4600	0	-479
5000	0	-676
5200	0	-433

Die folgenden Beispiele erläutern die Synthese der erfindungsgemässen Pyraziniumverbindungen. Jede Pyraziniumverbindung wird durch eine Nummer gekennzeichnet, welche der in den Tabellen I bis IV angegebenen Verbindungs- und Trägernummer entspricht. Temperaturangaben beziehen sich auf °C. Die Kernresonanzwerte (NMR) sind als Delta-Werte angegeben. Die UV-Spektren sind als Lambda max (nm) und log Epsilon angegeben. Die Säulenchromatographien wurden meist nach Gelpermeationsmethoden unter Verwendung von Polyacrylamid mit einem Molekulargrössenausschluss von 1800 Dalton (Biogel P-2) durchgeführt.

Beispiel 1 2-(1-Hydroxyethyl)-pyrazin (100)

21,6 g 2-Ethylpyrazin (101) wurden in 300 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 35,6 g N-Bromsuccinimid versetzt (J. Org. Chem., 37, 511 (1972)). Die Mischung wurde auf 75 °C erwärmt und mit 1,5 g Dibenzoylperoxid in einer Portion versetzt. Es wurde weitere 4 Std. erwärmt, wonach die Mischung abgekühlt und in 500 ml einer 10%igen Kaliumcarbonatlösung filtriert wurde.

Diese Mischung wurde rasch gerührt, bis kein 2-(1-Bromethyl)-pyrazin übrigblieb (TLC Silicagel/1:1 Ethylacetat/Hexan). Die wässrige Lösung wurde auf pH 6 angesäuert, auf 200 ml konzentriert und zwei Tage mit Essigester kontinuierlich extrahiert. Der Essigester wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand destilliert, was 18,6 g Produkt (100), Kp 112–113 °C (13 mm) ergab. UV H₂O max: 264 (3,85), 268 (3,82). ¹³C NMR: 159,75, S (C2); 144,52, D, 143,99, D, 142,51, D (C3, C5, C6); 69,20, D (CHOH); 23,11, Q (CH₃).

Beispiel 2

1-Methyl-3-(1-hydroxyethyl)-pyraziniumjodid (200)

2,0 g 2-(1-Hydroxyethyl)-pyrazin (100) wurde in 10 ml Äther gelöst und mit 5 ml Methyljodid versetzt. Der Kolben wurde verschlossen und im Dunkeln gelagert.

Nach fünf Tagen wurde der Feststoff abfiltriert, mit Essigester gewaschen und im Vakuum zu 7,8 g Produkt (200) eingedampft. Durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/Ethanol wurde reines Produkt, F 129 bis 130 °C (Zersetzung) erhalten.

UV H₂O max: 225 (4,11), 279 (3,85). ¹³C NMR: 167,58, S (C3); 150,57, D (C5); 137,14, D, 136,31, D (C2, C6); 69,03, D (CHOH); 50,14, Q (NCH₃); 22,88, Q (CH₃). ¹H NMR: 9,36, D, T (H6); 9,10, S (H2); 8,89, D (H5); 5,27, Q (CHOH); 4,52, T (NCH₃); 1,61, D (CCH₃).

Beispiel 3

1-Methyl-3-(2-hydroxyethyl)-pyraziniumjodid (300)

2,0 g 2-(2-Hydroxyethyl)-pyrazin (301), das in an sich be-

kannter Weise durch Kondensieren von Formaldehyd mit 2-Methylpyrazin erhalten worden war, wurden in 5 ml Methanol gelöst und mit 5 ml Methyljodid versetzt. Die Lösung wurde drei Tage unter Rückfluss gehalten, eingeeengt und der Rückstand durch Gelpermeationschromatographie gereinigt. Durch Gefriertrocknung wurden 3,2 g gelber Feststoff als Produkt (300) erhalten, das aus Essigester/Ethanol kristallisiert wurde, F 94 bis 95 °C.

UV H₂O max: 226 (4,13), 281 (3,85). ¹³C NMR: 163,25, S (C3); 150,71, D (C5); 138,69, D, 136,25, D (C2, C6); 60,38, T (CH₂OH); 49,88, Q (NCH₃); 38,75, T (-CH₂-). ¹H NMR: 9,35, D, T (H6); 8,97, S (H2); 8,85, D (H5); 4,49, S (NCH₃); 4,08, T; 3,35, T (ArCH₂, CH₂OH).

Beispiel 4

1-Methyl-3-hydroxymethyl-5-methyl-pyraziniumjodid (400)

2,0 g 2-Hydroxymethyl-6-methylpyrazin (401), hergestellt in an sich bekannter Weise nach Klein et al, J. Org. Chem., 26, 126 (1961), wurden in 5 ml Äther gelöst und mit 5 ml Methyljodid versetzt. Der Kolben wurde verschlossen und zwei Wochen im Dunkeln gelagert. Der Äther wurde abgegossen und das entstehende halbfeste Material aus Ethanol/Essigester umkristallisiert, was 1,8 g gelben Feststoff als Produkt (400), F 153 bis 154 °C, lieferte.

UV H₂O max: 226 (4,13), 287 (3,89). ¹³C NMR: 163,33, S, 161,73, S (C3, C5); 136,85, D, 133,10, D (C2, C6); 62,79, T (CH₂OH); 49,74, Q (NCH₃); 22,19, Q (ArCH₃). ¹H NMR: 8,80, S, 8,76, S (H2, H6); 4,97, S (CH₂OH); 4,44, S (NCH₃); 2,79, S (ArCH₃).

Beispiel 5

1-Methyl-3-(2-hydroxymethyl-6(5)-methylpyraziniumjodid (550))

5,0 g 2-Hydroxymethyl-5-methylpyrazin (501), eine an sich bekannte Verbindung, die in ähnlicher Weise wie das Pyrazin (401) erhältlich ist, wurde in 10 ml Äther gelöst und mit 10 ml Methyljodid versetzt. Der Kolben wurde verschlossen und vier Wochen im Dunkeln gelagert. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Äther gewaschen, was 6,9 g eines gelben kristallinen Feststoffes als Produkt (500), F 135 bis 137 °C, ergab. UV H₂O max: 227 (4,12), 288 (3,89).

¹³C-NMR zeigt, dass das Produkt eine Mischung der beiden möglichen Isomeren ist.

Beispiel 6

1-(3-Sulfonylpropyl)-3-methylpyrazin (600)

16,0 g 1,3-Propansulton wurden in 200 ml einer 1:1-Mischung von Äther und Essigester gelöst und mit 15,1 g 2-Methylpyradin versetzt. Die Mischung wurde dann gelagert und das Lösungsmittel abdampfen gelassen.

Der entstandene Feststoff wurde in 50 ml Wasser aufgenommen, mit Essigester gewaschen und chromatographiert («Biogel» P-2 und Wasser). Durch Gefriertrocknung wurden 20,5 g Produkt (600) erhalten, das aus Ethanol/Wasser umkristallisiert wurde, F 218 bis 221 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 282 (3,84). ¹³C NMR: 163,15, S (C3); 150,69, D (C5); 137,80, D, 134,81, D (C2, C6); 61,67, T (NCH₃); 47,79, T (CH₂SO₃); 26,73, T (CH₂); 22,36, Q (CH₃). ¹H NMR: 9,30, D, T (H6); 9,01, S (H2); 8,88, D (H5); 4,87, T (NCH₃); 3,03, T (CH₂SO₃); 2,84, S (CH₃); 2,50, M = 5 (-CH₂-).

Beispiel 7

1-(3-Sulfonylpropyl)-2,5-dimethylpyrazin (700)

6,0 g 2,5-Dimethylpyrazin (701) und 7,0 g 1,3-Propansulton wurden in 10 ml Essigester gelöst und zwei Tage auf 40 °C erwärmt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und mit Essigester gewaschen, was 7,9 g Produkt (700) er-

gab. Dieses wurde aus Propanol/Wasser umkristallisiert, F 258 bis 259 °C.

UV H₂O max: 204 (3,94), 290 (3,85). ¹³C NMR: 159,25, S (C5); 152,47, D (C3); 146,91, S (C2); 136,88, D (C6); 57,84, T (NCH₃); 47,94, T (CH₂SO₃); 25,42, T (CH₂); 21,49, Q, 17,16, Q (ArCH₃). ¹H NMR: 9,15, S (H3); 8,83, S (H6); 4,77, T (NCH₃); 3,09, T (CH₂SO₃); 2,90, S, 2,75, S (ArCH₃); 2,40, M = 5 (-CH₂-).

Beispiel 8

1-(2-Carboxyethyl)-pyraziniumbromid (800)

Dieses Produkt (800) wurde in an sich bekannter Weise (A. Le Berre et al, Bull. Soc. Chim. France, 2404 (1973)) hergestellt, F 189 bis 192 °C (Zersetzung), Literaturwert F 210 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 276 (3,79). ¹³C NMR: 173,65, D(CO₂H); 151,76, D(C3, C5); 138,47, D(C2, C6); 59,04, T(NCH₃); 34,90, T(-CH₂-).

Beispiel 9

2-(2-Sulfonylbutyl)-pyrazin-Natriumsalz (900)

2,72 g 2-Butylpyrazin und 3,56 g N-Bromsuccinimid wurden zu 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gegeben und die Mischung auf 70 bis 75 °C erwärmt. Dann wurden 0,3 g Dibenzoylperoxid zugegeben. Die Mischung wurde dann 3 Std. unter Rückfluss gehalten, abkühlen gelassen, filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Das entstandene Öl wurde in 100 ml Toluol aufgenommen, worauf 4,0 g 1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-en zugesetzt und die Lösung über Nacht unter Rückfluss gehalten wurde. Dann wurde abgekühlt, die Toluollösung abgegossen und im Vakuum konzentriert. Die entstandene Olefinverbindung, 2-(1-Butenyl)-pyrazin (901) wurde zu einer Lösung von 6,0 g Natriumsulfit in 100 ml Wasser gegeben und diese Mischung drei Tage unter Rückfluss gehalten. Die wässrige Lösung wurde mit Chloroform gewaschen, gefriergetrocknet und in 100 ml Methanol aufgenommen. Die Lösung wurde filtriert, das Filtrat konzentriert und durch Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt. Durch Gefriertrocknung wurden 3,32 g Produkt (900) als amorpher Feststoff erhalten. UV H₂O max: 268 (3,86), 272 (3,85).

Beispiel 10

1-Methyl-3-(2-sulfonylbutyl)-pyrazin (1000)

3,2 g 2-(2-Sulfonylbutyl)-pyrazin (900) wurden zu einer Lösung aus 10 ml Methyljodid in 25 ml Methanol gegeben und die Mischung vier Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde konzentriert und durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt. Durch Gefriertrocknung wurden 2,9 g eines amorphen Feststoffes als Produkt (1000) erhalten, das aus Essigester/Propanol kristallisiert wurde, F 224 bis 225 °C (Zersetzung). UV H₂O max: 283 (3,88).

Beispiel 11

2-(1-Sulfonylbutyl)-pyrazin-Natriumsalz (1100)

2,72 g 2-Butylpyrazin und 3,56 g N-Bromsuccinimid wurden zu 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gegeben und die Mischung auf 70 bis 75 °C erwärmt, worauf 0,3 g Dibenzoylperoxid zugegeben wurden. Dann wurde die Mischung 3 Std. unter Rückfluss gehalten, abgekühlt, filtriert und das Filtrat in Vakuum konzentriert. Das entstandene Öl, 2-(1-Brombutyl)-pyrazin (1101), wurde mit einer Lösung von 5 g Natriumsulfit in 100 ml Wasser gegeben und die Mischung zwei Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde abgekühlt und mit Chloroform extrahiert. Die wässrige Lösung wurde gefriergetrocknet, der Rückstand in 100 ml Methanol aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde konzentriert und

durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt. Durch Gefriertrocknung wurden 3,84 g Produkt (1100) erhalten, das aus Propanol/Wasser umkristallisiert wurde, F 278 bis 279 °C. UV H₂O max: 204 (3,84), 268 (3,86), 272 (3,84).

Beispiel 12

1-Methyl-3-(1-sulfonylbutyl)-pyrazin (1200)

3,6 g 2-(1-Sulfonylbutyl)-pyrazin (1100) wurden zu einer Lösung von 10 ml Methyljodid in 25 ml Methanol gegeben und die Mischung vier Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde konzentriert und durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt. Durch Gefriertrocknen wurden 3,2 g Produkt (1200) erhalten, das aus Propanol/Wasser umkristallisiert wurde, F 293 bis 295 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 206 (3,87), 283 (3,90). ¹H NMR: 9,41, D, T (H₆); 9,11, S (H₂); 8,94, D (H₅); 4,63–4,58, M (CHSO₃⁻); 4,52, S (NCH₃); 2,31, M (CH₂CHSO₃⁻); 1,27, M (CH₂CH₃); 0,89, T (CH₃).

Beispiel 13

4-(2-Pyrazinyl)-1-buten (1300)

Zu einer Mischung von 15,6 g Natriumamid in 400 ml Ammoniak wurden tropfenweise 37,6 g 2-Methylpyrazin gegeben. Die Mischung wurde 2 Std. gerührt und dann mit 24,2 g Allylbromid in 50 ml Äther langsam versetzt. Das Ganze wurde 2 Std. gerührt, mit 25 g Ammoniumchlorid versetzt und der Ammoniak durch 500 ml Äther ersetzt. Dann wurden 250 ml Wasser zugegeben, die organische Schicht abgetrennt und die wässrige Schicht zweimal mit Äther extrahiert. Die vereinigten organischen Schichten wurden dann unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde fraktioniert destilliert, was 20,5 g Produkt (1300), K_p 96 bis 97 °C (25 mm), ergab. UV 2% EtOH max: 268 (3,82), 273 (3,82).

In der obigen Destillation wurden ferner 5,4 g eines zweiten Produkts erhalten, welches als bisalkylierte Verbindung, 4-(2-Pyrazinyl)-1,6-heptadien (1301), K_p 122 bis 123 °C (25 mm), charakterisiert wurde. UV 10% EtOH max: 269 (3,83), 273 (3,83).

Beispiel 14

2-(3,4-Dihydroxybutyl)-pyrazin (1400)

4, 15 g 4-(2-Pyrazinyl)-1-buten (1300) wurden in 100 ml einer 1:1-Mischung aus Wasser und Aceton gelöst und auf 5 °C gekühlt. Dann wurde eine Lösung von 3,60 g Kaliumpermanganat in 300 ml Wasser langsam zugegeben. Diese Mischung wurde 18 Std. bei 5 °C gehalten und dann 4 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Der pH-Wert wurde mit 5%iger Schwefelsäure auf 7 eingestellt, die Mischung durch «Celite» filtriert und konzentriert. Durch kontinuierliche Extraktion mit Chloroform während zwei Tagen und folgendem Abdampfen des Lösungsmittels blieben 4,27 g Produkt (1400) zurück, das unter Vakuum destilliert wurde, K_p 174 bis 175 °C (0,2 mm). UV H₂O max: 268 (3,76), 272 (3,76).

Beispiel 15

1-Methyl-3-(3,4-dihydroxybutyl)-pyraziniumjodid (1500)

2,0 g 2-(3,4-Dihydroxybutyl)-pyrazin (1400) wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 5 ml Methyljodid versetzt. Dann wurde drei Tage unter Rückfluss gehalten und danach konzentriert. Reinigung durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) und Gefriertrocknung ergab 3,1 g eines amorphen festen Produktes (1500).

UV H₂O max: 226 (4,13), 282 (3,85). ¹³C NMR: 165,42, S (C₃); 150,57, D (C₅); 138,36, D, 135,90, D (C₂, C₆); 71,69, D (CHOH); 66,08, T (CH₂OH); 49,87, Q (NCH₃); 32,40, T

(-CH₂-); 31,99, T (-CH₂-). H NMR: 9,31, D, T (H₆); 8,97, S (H₂); 8,81, D (H₅); 4,47, S (NCH₃); 3,80, M (CHOH); 3,67–3,51, M, 3,29–3,15, M, 2,05, M; 1,98–1,88, M (ArCH₂).

Beispiel 16

4-(2-Pyrazinyl)-1,2,6,7-tetrahydroxyheptan (1600)

5,4 g 4-(2-Pyrazinyl)-1,6-heptadien (1301) wurden zu 100 ml Wasser und genügend Aceton zur Auflösung gegeben. Es wurde auf 5 °C gekühlt und eine Lösung von 6,6 g Kaliumpermanganat in 300 ml Wasser zugetropft. Dann wurde auf Raumtemperatur erwärmen gelassen und über Nacht gerührt.

Der pH-Wert wurde auf 7 eingestellt, die Lösung durch «Celite» filtriert und das Aceton unter Vakuum entfernt. Die wässrige Lösung wurde mit 200 ml Äther extrahiert und gefriergetrocknet.

Dieses Material wurde in 75 ml Ethanol aufgenommen, filtriert und das Filtrat konzentriert. Das Produkt wurde dann durch Gelpermeations-Chromatographie gereinigt («Biogel» P-2/Wasser), was nach dem Entfernen des Wassers 6,12 g eines fahlgelben öligen Produktes (1600) ergab. UV H₂O max: 268 (3,70), 273 (3,69).

Beispiel 17

1-Methyl-2-[4-(1,2,6,7-tetrahydroxyheptyl)]-pyraziniumjodid (1700)

2,0 g 4-(2-Pyrazinyl)-1,2,6,7-tetrahydroxyheptan wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 5 ml Methyljodid versetzt. Diese Mischung wurde vier Tage unter Rückfluss gehalten, dann abgekühlt und konzentriert. Der Rückstand wurde in 100 ml Wasser aufgenommen, mit Chloroform gewaschen und gefriergetrocknet. Dann wurde durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt und das Produkt durch Gefriertrocknung in einer 2,4 g eines amorphen Feststoffes (1700) erhalten.

UV H₂O max: 226 (4,14), 285 (3,83). ¹³C NMR zeigt, dass dies eine Mischung von drei Stereoisomeren ist: 169,17, 168,18, 167,21, S (C₃); 151,31, 150,95, 150,62, D (C₅); 138,2, M, 136,64, 136,25, 135,86, D (C₂, C₆); 71,07, 70,83, D (CHOH); 69,79, 69,62, D (CHOH); 66,45, 66,36, 66,28, T (CH₂OH); 49,86, Q (NCH₃); 41,53, 39,93, 38,83, D (-CH-); 38,91, 38,55, 38,43, 37,72, T (-CH₂-).

Beispiel 18

4-(1-Methyl-3-pyrazinyl)-heptan-1,7-disulfonat-Natriumsalz (1800) und 1-Methyl-3-(4-sulfonylbutyl)-pyrazin (1801)

Zu einer Suspension von Natriumamid (aus 2,3 g Natrium) in 150 ml Ammoniak wurden 9,4 g Methylpyrazin zuge-
tropft. Die entstandene blutrote Lösung wurde 2 Std. gerührt und dann mit einer Lösung von 6,1 g Propansulton in 20 ml Äther langsam versetzt. Diese Mischung wurde 2 Std. gerührt, mit 5 g Ammoniumchlorid versetzt und der Ammoniak durch Äther ersetzt. Dann wurden 500 ml Wasser zuge-
setzt und der pH-Wert auf 7 eingestellt, die wässrige Lösung zweimal mit Äther extrahiert und dann gefriergetrocknet. Dies ergab eine Rohmischung aus zwei Produkten, die durch Chromatographie auf «Biogel» P-2/Wasser getrennt werden konnten. Das Produkt wurde in einer mit «Biogel» P-2 gefüllten Kolonne entsalzen, gefriergetrocknet und dann in möglich wenig Methanol mit etwas Wasser zur Erleichterung der Auflösung aufgenommen. Dann wurden 50 ml Methyljodid zugegeben und die Lösung unter Rückfluss gehalten, bis das Ausgangsmaterial verschwunden war (kein Erschei-
nen von UV H₂O max 267). Das Lösungsmittel wurde entfernt und die Produktmischung durch Chromatographie (C18R.P./Wasser) aufgetrennt, wonach durch Gefriertrocknung zwei Produkte (1800) und (1801) erhalten wurden:

a) 3,8 g 4-(1-Methyl-3-pyrazinyl)-heptan-1,7-disulfonat-Natriumsalz (1800) als amorpher Feststoff.

UV H₂O max: 282 (3,83). ¹³C NMR: 165,43, S (C3); 150,56, D (C5); 138,42, D, 135,96, D (C2, C6); 60,05, D (–CH–); 51,64, 35,74, 29,24, 29,06, 26,13, 22,16, T (–CH₂–); 49,72, Q (NCH₃).

b) 4,2 g 1-Methyl-3-(4-sulfonylbutyl)-pyrazin (1801) als amorpher Feststoff.

UV H₂O max: 282 (3,84). ¹³C NMR: 165,39, S (C3); 150,55, D (C5); 138,29, D, 135,96, D (C2, C6); 51,31, T (CH₂SO₃); 49,49, Q (NCH₃); 35,41, T (ArCH₂); 27,59, T, 24,24, T (–CH₂–). ¹H NMR: 9,29, D, T (H6); 8,94, S (H2); 8,79, D (H5); 4,46, S (NCH₃); 3,16, T (CH₂SO₃); 2,99–2,94, M (ArCH₂); 1,96 M (CH₂CH₂SO₃); 1,81, M (ArCH₂CH₂).

Beispiel 19

Pyrazin-2-sulfonsäure-Natriumsalz (1900)

4,5 g Chlorpyrazin wurden zu einer Lösung von 8 g Natriumsulfit in 100 ml Wasser gegeben. Diese Mischung wurde 3 Std. unter Rückfluss gehalten, abgekühlt und mit Chloroform gewaschen. Dann wurde die wässrige Lösung gefriertrocknet, der Rückstand in 200 ml Methanol aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel P-2/Wasser») gereinigt. Durch Gefriertrocknen wurden 6,2 g Produkt (1900), F 299 bis 302 °C (Zersetzung), erhalten. UV H₂O max: 203 (3,79), 267 (3,79).

Beispiel 20

1-Methyl-3-sulfonylpyrazin (2000)

4,0 g Pyrazin-2-sulfonsäure-Natriumsalz (1900) wurden zu einer Lösung von 20 ml Methyljodid in 40 ml Methanol gegeben und die Mischung sieben Tage unter Rückfluss gehalten. Das Lösungsmittel wurde abgedampft und der Rückstand chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser), was 3,5 g Produkt (2000) ergab, das aus Ethanol/Wasser umkristallisiert wurde, F 270 bis 272 °C (Zersetzung). UV H₂O max: 282 (3,86).

Beispiel 21

2-(1,2-Dihydroxyethyl)-pyrazin (2100)

10,6 g 2-Vinylpyrazin (hergestellt nach M. R. Kamal et al, J. Org. Chem., 27, 1363 (1962)) wurden in 100 ml Wasser gelöst und unter Stickstoffatmosphäre auf 2–4 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 15,8 g Kaliumpermanganat in 500 ml Wasser unter kräftigem Rühren und fortgesetztem Kühlen langsam zugegeben (4 Std.). Nach Beendigung der Zugabe wurde die Mischung auf 5 °C gekühlt und über Nacht gelagert. Die gekühlte Mischung wurde mit 5%iger Schwefelsäure auf pH 7 eingestellt, der Niederschlag abfiltriert und mit 100 ml Wasser gewaschen. Nach Gefriertrocknen der wässrigen Lösung bleiben 20,3 g eines schwammigen Feststoffes zurück. Dieses Material wurde 4 Std. mit 500 ml absolutem Ethanol gerührt, die Salze durch Filtrieren entfernt und mit 50 ml Ethanol gewaschen. Durch Eindampfen des Ethanols wurden 13,6 g Material erhalten, das sich ausweislich HPLC-Analyse als zu 93% rein erwies; der Rückstand bestand aus Pyrazin-2-carbonsäure. Die Reinigung des Produktes wurde durch Chromatographie unter Verwendung von «Waters Prep» LC 500 mit zwei C18-Phasenumkehrkolonnen und 3% Methanol/Wasser als Elutionsmittel erzielt. Nach Entfernen des Lösungsmittels blieben 10,6 g Produkt (2100) als hellgelbes viskoses Öl zurück. UV H₂O max: 265 (3,86), 270 (3,82), 298 (2,87).

Beispiel 22

1-Methyl-3-(1,2-dihydroxyethyl)-pyraziniumjodid (2200)

2,8 g 2-(1,2-Dihydroxyethyl)-pyrazin (2100) wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 10 ml Methyljodid versetzt.

Die Lösung wurde drei Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in 100 ml Wasser aufgenommen und mit Chloroform gewaschen. Die wässrige Lösung wurde konzentriert und durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt. Durch Gefriertrocknung wurden 3,7 g Produkt (2200) erhalten, das aus Essigester/Ethanol rekristallisiert wurde, F 105 bis 106 °C. UV H₂O max: 227 (4,13), 281 (3,83).

Beispiel 23

2-(1-Sulfonylethyl)-pyrazin-Natriumsalz (2300)

5,4 g 2-Ethylpyrazin wurden in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 8,9 g N-Bromsuccinimid versetzt. Die Mischung wurde auf 70 bis 75 °C erwärmt, mit 0,5 g Dibenzoylperoxid versetzt und das Ganze 3 Std. unter Rückfluss gehalten. Dann wurde abgekühlt, filtriert und das Filtrat im Vakuum konzentriert. Das entstandene Öl wurde mit 10 g Natriumsulfit/100 ml Wasser versetzt und die Mischung drei Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde abgekühlt, mit Chloroform gewaschen und gefriertrocknet. Der entstandene Feststoff wurde in 200 ml Methanol aufgenommen, filtriert und das Filtrat konzentriert. Dann wurde durch Gelpermeations-Chromatographie gereinigt («Biogel» P-2/Wasser) und durch Gefriertrocknen 9,2 g Produkt (2300) erhalten. Dieses wurde aus Methanol umkristallisiert, F 258 bis 262 °C.

UV H₂O max: 203 (3,90), 267 (3,87), 272 (3,85). ¹³C NMR: 153,54, S (C2); 145,76, D, 144,97, D, 144,14, D (C3, C5, C6); 61,14, D (–CH–); 15,18, Q (CH₃).

Beispiel 24

1-Methyl-3-(1-sulfonylethyl)-pyrazin (2400)

3,5 g 2-(1-Sulfonylethyl)-pyrazin-Natriumsalz (2300) wurden in 75 ml Methanol gelöst und mit 10 ml Methyljodid versetzt. Der Kolben wurde verschlossen und bei Raumtemperatur im Dunkeln gelagert.

Nach einer Woche wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und zweimal mit Essigester gewaschen. Die wässrige Lösung wurde konzentriert und chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser). Durch Gefriertrocknen wurden 3,37 g Produkt (2400) erhalten, das aus Ethanol/Wasser umkristallisiert wurde, F 270 bis 272 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 282 (3,85), 203 (3,84). ¹³C NMR: 160,27, S (C3); 150,66, D (C5); 139,29, D, 137,22, D (C2, C6); 61,25, D (–CH–); 49,94, Q (N–CH₃); 14,58, Q (–CH₃). ¹H NMR: 9,37, D, T (H6); 9,11, S (H2); 8,91, D (H5); 4,72, Q (–CH–); 4,51, T (NCH₃); 1,80, D (CH₃).

Beispiel 25

2-(2-Sulfonylethyl)-pyrazin-Natriumsalz (2500)

7,0 g Vinylpyrazin (hergestellt gemäss M. R. Kamal et al, J. Org. Chem., 27, 1363 (1962)) wurden in 300 ml Äther gelöst und eine Lösung aus 8,3 g Natriumsulfit in 100 ml Wasser unter raschem Rühren zugegeben. Nach mehreren Tagen bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung auf 50 °C erwärmt und mit weiteren 10,0 g Natriumsulfit versetzt. Nach Beendigung (TLC Silicagel/Essigester) wurde die Reaktionsmischung gekühlt, mit Äther gewaschen und konzentriert. Dann wurde in 600 ml Methanol aufgenommen, filtriert und das Filtrat konzentriert. Das Konzentrat wurde durch Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt und ergab nach dem Gefriertrocknen 13,0 g eines weissen pulverigen Produktes (2500). Es wurde aus Methanol umkristallisiert, F 350 °C.

UV H₂O max: 267 (3,81), 272 (3,81), 300 (2,90). ¹³C NMR: 155,73, S (C2); 145,21, D, 144,86, D, 143,13, D (C3, C5, C6); 50,55, T (CH₂SO₃⁻); 30,68, T (ArCH₂).

Beispiel 26

1-Methyl-3-(2-sulfonylethyl)-pyrazin (2600)

5,0 g 2-(2-Sulfonylethyl)-pyrazin-Natriumsalz (2500) wurden zu einer Lösung von 10 ml Methyljodid und 50 ml Methanol gegeben und die Mischung vier Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde konzentriert und durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt. Durch Gefriertrocknen wurden 4,5 g Produkt (2600) erhalten. Dieses wurde aus Ethanol/Wasser umkristallisiert, F 255 bis 260 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 281 (3,87). ¹³C NMR: 162,99, S (C3); 150,63, D (C5); 138,51, D, 136,24, D (C2, C6); 49,66, Q (NCH₃); 49,56, T (CH₂SO₃⁻); 31,44, T (ArCH₂). ¹H NMR: 9,33, D, T (H6); 8,99, S (H2); 8,82, D (H5); 4,48, S (NCH₃); 3,58–3,43, M (–CH₂–).

Beispiel 27

2-Sulfonylmethylpyrazin-Natriumsalz (2700)

Eine Mischung aus 4,7 g 2-Methylpyrazin, 200 ml Tetrachlorkohlenstoff und 8,9 g N-Bromsuccinimid wurde auf 70–75 °C erwärmt und mit 6,1 g Dibenzoylperoxid versetzt. Dann wurde 5 Std. auf Rückfluss erwärmt, abgekühlt und filtriert. Das Filtrat wurde konzentriert, mit einer Lösung von 10 g Natriumsulfat/100 ml Wasser versetzt und die Mischung drei Tage unter Rückfluss gehalten. Dann wurde über Nacht kontinuierlich mit Chloroform extrahiert, der Extrakt gefriergetrocknet und der erhaltene Feststoff in 250 ml Methanol aufgenommen. Die Lösung wurde filtriert, das Filtrat konzentriert und chromatographiert («Biogel» P-2, Wasser), was 3,9 g Produkt (2700) ergab. Dieses wurde aus Ethanol/Wasser umkristallisiert, F 294 bis 299 °C.

UV H₂O max: 203 (3,84), 267 (3,84), 272 (3,83). ¹³C NMR: 149,23, S (C2); 146,44, D, 145,23, D, 144,22, D (C3, C5, C6); 57,03, T (CH₂SO₃⁻).

Beispiel 28

1-Methyl-3-sulfonylmethylpyrazin (2800)

3,0 g 2-Sulfonylmethylpyrazin (2700) wurden zu einer Lösung von 10 ml Methyljodid in 25 ml Methanol gegeben und drei Tage unter Rückfluss gehalten. Die Mischung wurde gekühlt und das Filtrat konzentriert. Der Feststoff wurde dann chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser) und gefriergetrocknet, was 2,5 g Produkt (2800) ergab. Dieses wurde aus Propanol/Wasser umkristallisiert, F > 240 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 282 (3,89). ¹³C NMR: 156,04, S (C3); 150,99, D (C5); 139,63, D, 137,42, D (C2, C6); 57,10, T (CH₂SO₃⁻); 50,01, Q (NCH₃). ¹H NMR: 9,40, D, T (H6); 9,12, S (H2); 8,96, D (H5); 4,67, S (CH₂SO₃⁻); 4,54, S (NCH₃).

Beispiel 29

2-Sulfonylmethyl-6-methylpyrazin-Natriumsalz (2900)

Eine Mischung aus 5,4 g 2,6-Dimethylpyrazin und 8,9 g N-Bromsuccinimid in 200 ml Tetrachlorkohlenstoff wurde auf 75 °C erwärmt und mit 6,1 g Dibenzoylperoxid versetzt. Dann wurde 6 Std. unter Rückfluss erwärmt, abgekühlt, filtriert und das Filtrat konzentriert. Dieses Konzentrat wurde mit 10 g Natriumsulfat in 100 ml Wasser versetzt und die Mischung vier Tage auf Rückfluss erwärmt. Die wässrige Lösung wurde dann kontinuierlich mit Chloroform über Nacht extrahiert, der Extrakt gefriergetrocknet und der erhaltene Feststoff in 250 ml Methanol aufgenommen. Die Lösung wurde filtriert, das Filtrat konzentriert und chromato-

graphiert («Biogel» P-2/Wasser), was 4,8 g Produkt (2900) ergab. Das aus Ethanol/Wasser umkristallisierte Produkt hatte einen Schmelzpunkt von 282 bis 285 °C (Zersetzung). UV H₂O max: 208 (3,80), 276 (3,88).

5

Beispiel 30

1-Methyl-3-sulfonylmethyl-5-methylpyrazin (3000)

4,0 g 2-Sulfonylmethyl-6-methylpyrazin-Natriumsalz (2900) wurden zu einer Lösung von 15 ml Methyljodid in 30 ml Methanol gegeben und die Mischung vier Tage auf Rückfluss erwärmt. Dann wurde abgekühlt und filtriert. Das Filtrat wurde chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser) und lieferte nach dem Gefriergetrocknen 3,4 g Produkt (3000), das aus Propanol/Wasser umkristallisiert wurde, F > 280 °C (Zersetzung). UV H₂O max: 288 (3,92).

Beispiel 31

2-Sulfonylmethyl-5-methylpyrazin-Natriumsalz (3100)

Eine Mischung aus 3,3 g 2,5-Dimethylpyrazin und 5,4 g N-Bromsuccinimid in 150 ml Tetrachlorkohlenstoff wurde auf 75 °C erwärmt und mit 3,7 g Dibenzoylperoxid versetzt. Diese Lösung wurde 6 Std. auf Rückfluss erwärmt, abgekühlt und filtriert. Das Filtrat wurde konzentriert und eine Lösung aus 10 g Natriumsulfat in 100 ml Wasser zugegeben. Die Mischung wurde drei Tage auf Rückfluss erwärmt und dann über Nacht kontinuierlich mit Chloroform extrahiert. Die wässrige Schicht wurde gefriergetrocknet, in 150 ml Methanol aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde konzentriert und chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser), was 3,1 g eines amorphen Feststoffes ergab. Dieser wurde aus Propanol/Wasser kristallisiert und lieferte das Produkt (3100), F > 200 °C (Zersetzung).

UV H₂O max: 209 (3,89), 278 (3,85).

35

Beispiel 32

1-Methyl-3-sulfonylmethyl-6-methylpyrazin (3200)

2,0 g 2-Sulfonylmethyl-5-methylpyrazin-Natriumsalz (3100) wurden zu einer Lösung von 15 ml Methyljodid in 25 ml Methanol gegeben und fünf Tage auf Rückfluss erwärmt. Die Mischung wurde dann abgekühlt und filtriert. Der Feststoff wurde durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt und ergab nach dem Gefriergetrocknen 1,6 g Produkt (3200). Dieses wurde aus Propanol/Wasser umkristallisiert, F > 350 °C (Zersetzung). UV H₂O max: 213 (3,91), 293 (3,87).

Beispiel 33

2-(2-Hydroxybutyl)-pyrazin (3300)

Zu einer Suspension von Natriumamid (aus 11,5 g Natrium) in 1 Liter Ammoniak wurden 47 g 2-Methylpyrazin gegeben. Die Mischung wurde eine Stunde gerührt und dann eine Lösung von 15 g Propionaldehyd in 25 ml Äther zugegeben. Die Mischung wurde dann 2 Std. gerührt, langsam mit 50 g Ammoniumchlorid versetzt und der Ammoniak durch Äther ersetzt. Es wurden 250 ml Wasser zugegeben und das Produkt mit Essigester extrahiert, der Extrakt über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Der Rückstand ergab beim Destillieren 12,7 g Produkt (3300), Kp 141 bis 143 °C (16 mm).

UV H₂O max: 267 (3,80), 272 (3,79). ¹³C NMR: 155,90, S (C2); 145,89, D, 144,68, D, 142,88, D (C3, C5, C6); 73,37, D (CHOH); 42,28, T (ArCH₂); 29,98, T (–CH₂–); 9,97, Q (CH₃).

Beispiel 34

1-Methyl-3-(2-hydroxybutyl)-pyraziniumjodid (3400)

3,1 g 2-(2-Hydroxybutyl)-pyrazin (3300) wurden in 30 ml Methanol gelöst, mit 10 ml Methyljodid versetzt und die Lö-

sung drei Tage auf Rückfluss erwärmt. Dann wurde die Lösung konzentriert, in Wasser aufgenommen und mit Chloroform extrahiert. Die wässrige Lösung wurde konzentriert und chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser). Durch Gefriertrocknen wurden 4,6 g Produkt (3400) als gelber Feststoff erhalten, der nach Umkristallisieren aus Essigester/Ethanol bei 108 bis 109 °C schmolz.

UV H₂O max: 227 (4,11), 282 (3,85). ¹³C NMR: 163,30, S (C3); 150,63, D (C5); 138,77, D, 136,12, D (C2, C6); 72,66, D (CHOH); 49,93, Q (NCH₃); 43,02, T, 30,11, T (-CH₂-); 9,97, Q (CH₃). ¹H NMR: 9,35, D, T (H6); 8,95, S (H2); 8,85, D (H5); 4,49, S (NCH₃); 4,11, M (CHOH); 3,39–3,14, M (ArCH₂); 1,75–1,52, M (-CH₂-); 0,99, T (CH₃).

Beispiel 35

1-Methyl-3-(2-oxybutyl)-pyraziniumjodid (3500)

4,0 g 2-(2-Oxybutyl)-pyrazin, hergestellt durch Oxidation nach Jones von 2-(2-Hydroxybutyl)-pyrazin (3300) oder gemäss der Methode von J.D. Behun et al, J. Am Chem. Soc., 81, 5157 (1959), wurden in 10 ml Essigester gelöst und mit 10 ml Methyljodid versetzt. Diese Lösung wurde in einem verschlossenen Behälter im Dunkeln gelagert. Das entstehende halb feste Material wurde in Wasser aufgenommen, mit Essigester gewaschen und zu 4,6 g eines hygroskopischen pulverförmigen Produktes (3500), F 67 bis 69 °C, gefriergetrocknet.

UV H₂O max: 226 (4,18), 280 (3,84).

Beispiel 36

2-(1-Nitroisopropyl)-pyrazin (3600)

10,8 g 2-Ethylpyrazin wurden in 200 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst, mit 17,8 g N-Bromsuccinimid versetzt und die Mischung auf 75 °C erwärmt. Diese Mischung wurde mit 1 g Dibenzoylperoxid versetzt und 4 Std. auf Rückfluss erwärmt. Dann wurde gekühlt, abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Konzentrat wurde mit einer Lösung von 0,1 Mol Natriumnitromethylat in 250 ml Methanol versetzt und die Mischung zwei Tage auf Rückfluss erwärmt. Die entstandene Mischung wurde abgekühlt, filtriert und das Filtrat konzentriert. Der Rückstand wurde chromatographiert (C₁₈/Wasser) und ergab nach dem Gefriertrocknen 4,9 g eines fahlgelben öligen Produktes (3600). UV H₂O max: 266 (3,89), 270 (3,86).

Beispiel 37

1-Methyl-3-(1-nitroisopropyl)-pyraziniumjodid (3700)

2,0 g (2-(1-Nitroisopropyl)-pyrazin (3600) wurden in 10 ml Methanol gelöst, mit 5 ml Methyljodid versetzt und die Lösung vier Tage auf Rückfluss erwärmt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Chloroform gewaschen. Dann wurde chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser) und durch Gefriertrocknung 3,2 g Produkt (3700) erhalten und aus Essigester/Ethanol umkristallisiert, F 135 bis 136 °C.

UV H₂O max: 227 (4,18), 281 (3,89).

Beispiel 38

1-Methyl-3-(2-acetamidoethyl)-pyraziniumjodid (3800)

3,0 g (2-(2-Acetamidoethyl)-pyrazin, hergestellt nach G. M. Singerman et al, J. Org. Chem. 30, 4379 (1965), wurden in 10 ml Äther gelöst und mit 10 ml Methyljodid versetzt. Das Produkt wurde in einem verschlossenen Behälter zwei Wochen im Dunkeln gelagert. Das entstandene Produkt wurde dann abfiltriert, mit Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet, was 3,4 g eines gelben festen Produktes (3800) ergab, das aus Essigester/Ethanol umkristallisiert wurde, F 138 bis 139 °C.

UV H₂O max: 226 (4,17), 281 (3,85).

Beispiel 39

1-Methyl-3-(2-carboxyethyl)-pyraziniumjodid (3900)

2,0 g 2-(2-Carboxyethyl)-pyrazin, hergestellt nach Jones et al, J. Am. Chem. Soc., 72, 3539 (1950), wurden in 15 ml Methanol gelöst und mit 1,2 ml Methyljodid versetzt. Die Lösung wurde drei Tage auf Rückfluss erwärmt, abgekühlt und konzentriert. Der entstandene amorphe Feststoff wurde aus Propanol kristallisiert, was 3,5 g 1-Methyl-3-(2-carboxymethoxyethyl)-pyraziniumjodid (3901), F 108 bis 109 °C, ergab.

UV H₂O max: 226 (4,14), 281 (3,86).

1,0 g 1-Methyl-3-(2-Carbomethoxyethyl)-pyraziniumjodid wurde in 30 ml 2 n HCl gelöst und über Nacht auf Rückfluss erwärmt. Dann wurde konzentriert, in 100 ml Wasser aufgenommen und mit Methylenchlorid gewaschen. Durch Konzentrieren der wässrigen Lösung wurden 0,55 g 1-Methyl-3-(2-carboxyethyl)-pyraziniumjodid (3900) als amorpher Feststoff erhalten.

UV H₂O max: 226 (4,12), 281 (3,85).

Beispiel 40

1-Methyl-3-(2-carboxamidoethyl)-pyraziniumjodid (4000)

0,75 g 2-(2-Carboxamidoethyl)-pyrazin, hergestellt nach der in Beispiel 39 genannten Methode, wurden in 8 ml Methanol gelöst und mit 1,0 Methyljodid versetzt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht auf Rückfluss erwärmt. Während dieser Zeit entstand ein gelber Niederschlag. Die Mischung wurde abgekühlt und der abfiltrierte Feststoff mit Essigester gewaschen. Diese lieferte 0,90 g 1-Methyl-3-(2-Carboxamidoethyl)-pyraziniumjodid (4000), das aus Essigester Ethanol umkristallisiert wurde, F 172 bis 173 °C.

UV H₂O max: 226 (4,13), 281 (3,86).

Beispiel 41

1-Methyl-3-(2-sulfonyl-3,4-dihydroxybutyl)-pyrazin (4100)

(a) 9,2 g (2-(3,4-Dihydroxybutyl)-pyrazin (1400) wurden in 450 ml einer 1:1-Mischung von Pyridin und Essigsäureanhydrid gelöst und zwei Tage bei 25 °C gerührt. Die Lösung wurde im Vakuum konzentriert, mit 250 ml Eiswasser versetzt und zweimal mit je 250 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Schichten wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, konzentriert und der Rückstand destilliert, was 11,5 g 2-(3,4-Diacetoxybutyl)-pyrazin (4101), Kp 141–142 °C (0,4 mm).

(b) 6,0 g 2-(3,4-Diacetoxybutyl)-pyrazin (4101) wurden in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 4,24 g N-Bromsuccinimid versetzt. Diese Mischung wurde auf 75 °C erwärmt, mit 2,90 g Dibenzoylperoxid versetzt und die Reaktionsmischung 3 Std. auf Rückfluss erwärmt. Nach Abkühlen der Mischung wurde filtriert, das Filtrat in Vakuum konzentriert und der Rückstand auf Silicagel chromatographiert (Hexan, dann Hexan/Essigester). Dies ergab 7,0 g einer Mischung von zwei diastereomeren Bromiden (4102 und 4103). Diese wurden nicht getrennt, sondern direkt für den nächsten Schritt verwendet.

(c) 7,0 g 2-(1-Brom-3,4-diacetoxybutyl)-pyrazin (4102 und 4103) wurden in 100 ml Toluol gelöst, mit 3,3 g 1,8-Diazabicyclo [5,4,0]-undec-7-en unter Argonatmosphäre versetzt und die Lösung über Nacht auf 65 bis 70 °C erwärmt. Dann wurde gekühlt, die Toluollösung abgegossen und im Vakuum konzentriert. Der Rückstand wurde auf Silicagel (Hexan/Essigester) chromatographiert, was 3,5 g 2-(3,4-Diacetoxy-1-butenyl)-pyrazin (4104) als fahlgelbes Öl lieferte.

UV EtOH max: 240 (4,14), 292 (3,85), 298 (3,86).

(d) 2,60 g 2-(3,4-Diacetoxy-1-butenyl)-pyrazin (4104) wurden zu einer Lösung von 78 mg Natrium in 50 ml Methanol gegeben. Die Mischung wurde bei 25 °C über Nacht gerührt und dann im Vakuum konzentriert. Dieses Produkt

wurde durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2; Wasser) gereinigt und lieferte 1,71 g 2-(3,4-Dihydroxy-1-butenyl)-pyrazin (4105) als fahlgelbes Öl.

UV H₂O max: 234 (4,08), 292 (3,86).

(e) 1,7 g 2-(3,4-Dihydroxy-1-butenyl)-pyrazin (4105) wurden zu 25 ml einer 10%igen Natriumsulfitlösung gegeben und auf Rückfluss erwärmt, bis das olefinische Ausgangsmaterial verschwunden war. Die Lösung wurde dann abgekühlt, konzentriert und durch Gelpermeations-Chromatographie («Biogel» P-2/Wasser) gereinigt, was 2,4 g 2-(2-Sulfonyl-3,4-dihydroxybutyl)-pyrazin-Natriumsalz als Mischung der Diastereoisomeren (4106 und 4107) ergab.

UV H₂O max: 267 (3,86), 272 (3,85).

(f) 1,2 g 2-(2-Sulfonyl-3,4-dihydroxybutyl)-pyrazin-Natriumsalz (4106 und 4107) wurden zu einer Lösung von 10 ml Methyljodid in 25 ml Methanol gegeben. Dann wurden 2 ml Wasser zugegeben und die Mischung fünf Tage auf Rückfluss erwärmt. Nun wurde konzentriert, in 100 ml Wasser aufgenommen und mit Essigester gewaschen. Die wässrige Schicht wurde konzentriert und der Rückstand chromatographiert («Biogel» P-2/Wasser), was 1,1 g 1-Methyl-3-(2-sulfonyl-3,4-dihydroxybutyl)-pyrazin (4100) als Mischung der Diastereoisomeren ergab.

UV H₂O max: 283 (3,88). Diese Mischung wurde unter Verwendung einer «Biorad» Ag-50 W × 4 (Ca⁺⁺)-Kolonne bei 65 °C mit Wasser als Elutionsmittel in ihre Komponenten getrennt.

¹³C NMR: 163,89, S (C3); 150,36, D (C5); 138,88, D, 135,81, D, (C2, C6); 71,05, D (CHOH); 64,41, T (CH₂OH);

61,64, D (CHSO₃); 49,65, Q (NCH₃); 32,61, T (-CH₂-). ¹³C NMR (Epimer); 163,49, S (C3); 150,44, D (C5); 138,77, D, 135,92, D (C2, C6); 71,82, D (CHOH); 63,37, T (CH₂OH); 63,25, D (CHSO₃); 49,65, Q (NCH₃); 33,26, T (-CH₂-).

5

Beispiele 42–52

1-Methylpyrazinium-Verbindungen

Weitere Pyraziniumverbindungen wurden nach an sich bekannten Verfahren ähnlich den in den obigen Beispielen beschriebenen Methoden hergestellt:

Bei- spiel	Bezeichnung
15 42	1,2,5,6-Tetramethyl-3-hydroxy-methylpyraziniumjodid (4200)
43	1,3-Dimethylpyraziniumjodid (4300)
44	1-Methyl-3-carboxy-pyraziniumjodid (4400)
45	1-Methyl-3-methoxycarbonyl-pyraziniumjodid (4500)
20 46	1-Methyl-3-carbamido-pyraziniumjodid (4600)
47	1-Methyl-3-(methylsulfonylmethyl)-pyraziniumjodid (4700)
48	1-Methyl-3-(methoxythiaacetyl)-pyraziniumjodid (4800)
25 49	1-Methyl-3-ethyl-pyraziniumjodid (4900)
50	1-Methyl-3-butyl-pyraziniumjodid (5000)
51	1-Methyl-3-vinyl-pyraziniumjodid (5100)
52	[(1-Methyl)-benzopyrazinium]-methylsulfonat (5200).