

CCA-1560

YU ISSN 0011-1643

UDC 547.

Original Scientific Paper

## Synthese und Eigenschaften einiger *p*-Hydroxyacetophenonderivate

*Spomenka Kovač**Fakultät für Nahrungsmitteltechnologie der Universität Osijek, Tenjska cesta bb.,  
YU-54000 Osijek**Vladimir Rapić\*, † Marijan Laćan**Fakultät für Lebensmittelindustrie und Biotechnologie der Universität Zagreb,  
Pierottijeva 6, YU-41000 Zagreb**und Elsa Reiner**Institut für medizinische Forschungen und Arbeitsmedizin, Moše Pijade 158,  
YU-41000 Zagreb, Kroatien, Jugoslawien*

Eingegangen am 1. Januar 1984.

Ausgehend von *p*-Hydroxyacetophenon und Diethyl-oxalat in Gegenwart von Natriumethoxid, abhängig von Reaktionsbedingungen, wurden 4-(*p*-Hydroxyphenyl)-2,4-dioxobutansäure (III) und der entsprechende Ester (IV) erhalten. Die Umwandlung von 1-(*p*-Hydroxyphenyl)-1,3-butandion (II) bzw. III mit Methyl-isocyanat/Trimethylamin verläuft unter Bildung von 1-[*p*-(*N*-Methylcarbamoyloxy)phenyl]-1,3-butandion (V) und *N*-Methyl-4-[*p*-(*N*-methylcarbamoyloxy)phenyl]-2,4-dioxobutanamid (VI).

Verbindung VI ist ein Hemmstoff der Acetylcholinesterase; Verbindung V verursacht keine Hemmung.

Die Bedeutung und Verbreitung der Carbamatpestizide unter denen die Phenylcarbamate eine wichtige Stelle einnehmen, ist gut bekannt.<sup>1</sup>

In diesem Zusammenhang planten wir bisher nichtbeschriebene von *p*-(*N*-methylcarbamoyloxy)acetophenon (I) abgeleitete Phenylcarbamate vorzubereiten und ihre Eigenschaften als Hemmstoffe der Acetylcholinesterase zu prüfen. Es ist bekannt, dass I als Hemmstoff der Cholinesterasen wirkt.<sup>2,3,4</sup>

In dieser Arbeit sind Kondensationsprodukte von *p*-Hydroxyacetophenon (HAP) mit Oxalsäureester beschrieben. Diese phenolischen Produkte bzw. 1-(*p*-Hydroxyphenyl)-1,3-butandion (II)<sup>5</sup> wurden danach mit Methylisocyanat in die entsprechenden *p*-substituierten Phenylcarbamate umgewandelt.

Ein Versuch der Claisen-Kondensation von HAP mit Diethyl-oxalat und Natriumethoxid unter Bedingungen der Lit.<sup>6</sup> ergab den Ester IV nur mit sehr geringer Ausbeute. Durch Änderung der Reaktionsbedingungen (siedendes Toluol) und der Reagenzienverhältnisse zu 1 : 1 : 4 wurde der Ester IV in einer Ausbeute von 51% dargestellt. Die Kondensation im Molverhältniss 1 : 1 : 6

\* Der Autor an den die Korrespondenz zu richten ist.

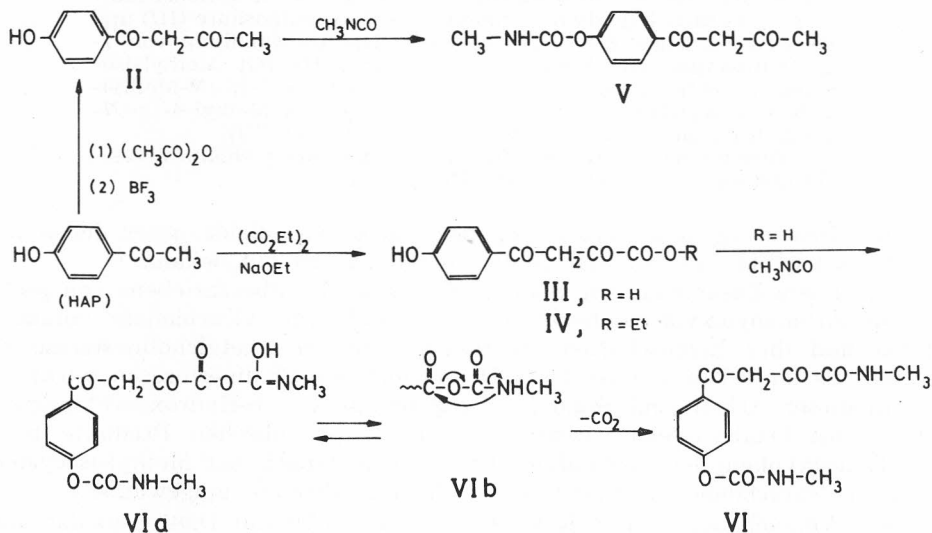
unter Rückflusskochen in Ethanol führt (52% Ausbeute) zu der entsprechenden Säure *III*.

Einwirkung eines Überschusses an Methyl-isocyanat in Anwesenheit von Trimethylamin in Ether auf das Diketon *II* führt zu dem entsprechenden Carbamat *V*.

Lässt man Methyl-isocyanat/Trimethylamin auf die Säure *III* in *N,N*-Dimethylformamid einwirken, so reagiert neben der phenolischen Hydroxyl-Gruppe auch die Carboxyl-Gruppe. Auf Grund von spektrometrischen Eigenschaften der hergestellten Verbindung, und in Übereinstimmung mit der beobachteten Kohlendioxidentwicklung, kann man schliessen, dass die Carboxyl-Gruppe von *III* unter Decarboxylierung in die *N*-Methylcarbamoyl-Gruppe umgewandelt wird. Diese Reaktion könnte nach dem in Abb. dargestelltem Mechanismus verlaufen, in welchem die Decarboxylierung des Zwischenprodukts *VIa*, bzw. *VIb*, durch das Partizipieren der elektronenanziehenden Amino-Gruppe unterstützt wird. Solch eine Reaktion könnte man mit der leichten Decarboxylierung von Carbaminsäuren unter Bildung von Aminen vergleichen.<sup>7</sup>

Die Amid-Struktur der isolierten Verbindung *VI* ist durch die Anwesenheit von IR-Banden ( $\nu$  NH 3395, Amid I 1673, Amid II 1520  $\text{cm}^{-1}$ ) indiziert; auf die Carbamat-Funktion kann man auf Grund von Banden bei 3356 ( $\nu$  NH) und 1710  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$  C=O) schliessen. Die Fragmentierungsprozesse im Massenspektrum sind ebenfalls in Übereinstimmung mit der vorgeschlagenen Struktur.

Die Reaktion von Ester *IV* und Methyl-isocyanat/Trimethylamin ergab eine unidentifizierte harzartige Masse.



Die Carbamate *V* und *VI*, so wie auch deren Ausgangssubstanz *I*, wurden als Hemmstoffe der Acetylcholinesterase getestet. Verbindung *V* (1.0  $\text{mmol dm}^{-3}$ ) zeigte keine Hemmung bei Inkubationszeiten bis zu 60 min. Verbindungen *VI* und *I* hemmten die Acetylcholinesterase mit Geschwindigkeitskonstanten von 90 bzw. 280  $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{min}^{-1}$ .

## EXPERIMENTELLER TEIL

## 4-(p-Hydroxyphenyl)-2,4-dioxobutansäure (III)

Zu einer siedenden Lösung von Natriumethoxid [aus 6,9 g (0,30 mol) elementarem Natrium in 150 ml abs. Ethanol] fügt man unter Wasserausschluss 6,8 g (50 mmol) HAP, worauf man 7,3 g (50 mmol) Diethyl-oxalat zugetropft. Der gebildete Niederschlag des Natrium-Salzes wird abgesaugt, getrocknet, pulverisiert und mit 20% HCl versetzt. Man erhält 5,4 g (52,0%) gelboranger Kristalle; Schmp.: (decarboxyl.) 221—223 °C (aus Wasser).

IR Spektrum (KBr) 3400—2900 ( $\nu$ OH phenol. und carboxyl. assoz., enol. und chelat.  $\beta$ -Diketon), 1720 ( $\nu$ CO carboxyl.) und 1605  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$ CO enol. und chelat.  $\beta$ -Diketon).  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum ( $[\text{D}_6]$ -DMSO): 9,91—10,87 (m; 2H, phenol. und carboxyl.), 7,98 (dF; 2H, o-H Phenyl,  $J_{o-H, m-H} = 5,8$  Hz), 7,03 (s; 1H, CH=C—O enol.  $\beta$ -Diketon) und 6,92 ppm (dF; 2H, m-H Phenyl,  $J = 5,8$  Hz).

Anal.  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_5$  (208,12) Ber.: C 57,71; H 3,87%

Gef.: C 57,76; H 4,04%

## 4-(p-Hydroxyphenyl)-2,4-dioxobutansäureethylester (IV)

Zu einer Suspension von pulverisiertem Natriumethoxid [aus 4,6 g (0,2 mol) elementarem Natrium und 50 ml absol. Ethanol] in 25 ml Toluol wird 6,8 g (50 mmol) HAP und 7,3 g (50 mmol) Diethyl-oxalat zugefügt. Das Reaktionsgemisch wird 2 h unter Rückfluss gekocht; nach dem Erkalten werden abgeschiedene Kristalle von Natrium-Salz abfiltriert, getrocknet, pulverisiert und in Eiswasser gelöst. Durch Zugabe 20% HCl bis pH 5 erhält man 6,1 g (51,4%) schwach gelbe Kristalle, Schmp.: 147—148 °C (aus 50% wässrigem Ethanol). IR Spektrum (KBr): 3000—3450 ( $\nu$ OH carboxyl. assoz., enol. und chelat.  $\beta$ -Diketon).  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum ( $[\text{D}_6]$ -DMSO): 9,51—10,01 (m; 1H, phenol.), 7,98 (dF; 2H, o-H, Phenyl,  $J_{o-H, m-H} = 5,8$  Hz), 7,04 (s; 1H, CH=C—O enol.  $\beta$ -Diketon), 6,92 (dF; 2H, m-H, Phenyl,  $J = 5,8$  Hz), 4,31 (q; 2H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ) und 1,32 ppm (t; 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ).

Anal.  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_5$  (236,18) Ber.: C 61,03; H 5,12%

Gef.: C 61,18; H 4,89%

## 1-[p-(N-Methylcarbamoyloxy)phenyl]-1,3-butandion (V)

Zu einer Lösung von 360 mg (2 mmol)  $\text{II}^5$  in 50 ml Ether wird unter Rühren 456 mg (8 mmol) Methyl-isocyanat und einige Tropfen Trimethylamin gegeben. Das Reaktionsgemisch lässt man über Nacht stehen und saugt die ausgeschiedenen Kristalle (400 mg — 85,1%). Aus abs. Ethanol erhielt man glänzende, weisse Kristalle Schm. 127 °C. IR Spektrum (KBr): 3360 ( $\nu$ NH), 1703 ( $\nu$ CO Carbamat) und 1596  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$ CO enol. und chelat.  $\beta$ -Diketon).  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,88 (dF; 2H, o-H Phenyl,  $J_{o-H, m-H} = 6,1$  Hz), 7,21 (dF; 2H, m-H, Phenyl,  $J = 6,1$  Hz), 6,14 (s; 1H, CH=C—O enol. und chelat.  $\beta$ -Diketon), 5,01—5,25 (m; 1H, NH), 2,90 (d; 3H,  $\text{CH}_3\text{N}$ ,  $J = 3,3$  Hz) und 2,17 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

Anal.  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_4$  (235,20) Ber.: C 61,28; H 5,57; N 5,95%

Gef.: C 61,09; H 5,75; N 5,48%

## N-Methyl-4-[p-(N-methylcarbamoyloxy)phenyl]-2,4-dioxobutanamid (VI)

Die Lösung von 208 mg (1 mmol) der Säure III in 3 ml *N,N*-Dimethylformamid wird mit 456 mg (8 mmol) Methyl-isocyanat und einigen Tropfen Trimethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde nach 3-stündigem Rühren mit 3 ml 0,1 mol  $\text{dm}^{-3}$  HCl versetzt, und ausgeethert (30 ml Ether). Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen und eingedampft, ergebend 80 mg (28,5%) hell brauner nadel-förmiger Kristalle; Schmp.: 221—223 °C (aus abs. Ethanol). IR Spektrum (KBr): 3395 ( $\nu$ NH Amid), 3356 ( $\nu$ NH Carbamat), 1710 ( $\nu$ CO Carbamat), 1673 ( $\nu$ CO Amid I) und 1520  $\text{cm}^{-1}$  (Amid II). MS (70 eV):  $m/e = 278$  (2%,  $\text{M}^+$ ), 221 (14%,  $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 163 (Basispeak, 221- $\text{CH}_3\text{NHCO}$ ), 121 (57%, 163- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 93 (11%, 121-CO) u. a.  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum ( $[\text{D}_6]$ -DMSO): 8,66—8,94 (m; 1H, NH), 8,07 (dF; 2H, o-H Phenyl,  $J_{o-H, m-H} = 5,9$  Hz), 7,71—7,93 (m; 1H, NH), 7,29 (dF; 2H, m-H Phenyl,  $J = 5,9$  Hz), 7,06 (s, 1H,

CH=C—O, enol.  $\beta$ -Diketon), 2,74 (d; 3H, CH<sub>3</sub>N,  $J = 3.5$  Hz) und 2,69 ppm (d; 3H, CH<sub>3</sub>N,  $J = 4,3$  Hz).

Anal. C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (278,26) Ber.: C 56,11; H 5,07; N 28,75%

Gef.: C 56,17; H 5,19; N 28,31%

#### Hemmung der Acetylcholinesterase

Die Versuche wurden in 0,1 mol dm<sup>-3</sup> Phosphatpuffer pH = 7,4 bei 37 °C durchgeführt. Als Präparat der Acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7) wurden native menschliche Erythrocyten verwendet. Das Substrat war Acetylthiocholin. Die Aktivität wurde mit dem Thiolreagenz DTNB [5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoesäure)] nach der spektrophotometrischen Methode von Ellman *et al.*<sup>8</sup> gemessen (für Einzelheiten der Methode siehe<sup>9</sup>). Stammlösungen der Hemmstoffe wurden in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) vorbereitet. Während der Hemmung und Messung der Aktivität war die DMF Konzentration 1,0%. Die Leerprobe enthielt alle Reaktanten ausser des Substrats. Die Ergebnisse wurde als Prozent der Aktivität berechnet wobei als 100% die Aktivität des Kontrollansatzes ohne Hemmstoff aber in Anwesenheit von 1,0% DMF genommen wurde.

*Dank.* — Wir danken Frau Dr. J. Jelenčić und Frau J. Brcković für die Aufnahmen von IR-Spektren, Herrn Dipl. Ing. Z. Radić und Frau M. Kralj für ihre Hilfe bei den biochemischen Versuchen, und Herrn Dr. S. Koprivanac für seine wertvollen Diskussionsbeiträge.

Dem Wissenschaftsrat der Republik Kroatien danken wir für die finanzielle Unterstützung.

#### LITERATURZITATEN

1. *Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfung*, (K. H. Büchel, Editor), G. Thieme Verlag, Stuttgart 1977.
2. T. Nishioka, T. Fujita, K. Kamoshita und M. Nakajima, *Pestic. Biochem. Physiol.* **7** (1977) 107.
3. K. Kamoshita, I. Ohno, T. Fujita, T. Nishioka und M. Nakajima, *Pestic. Biochem. Physiol.* **11** (1979) 83.
4. K. Kamoshita, I. Ohno, K. Kasamatsu, T. Fujita und M. Nakajima, *Pestic. Biochem. Physiol.* **11** (1979) 104.
5. CIBA (A.R.L.) Ltd. (Erf. D. A. Thornton und M. E. B. Jones) *Brit. Pat.* 948,494 (5. Febr. 1964) [*Chem. Abstr.* **60** (1964) P 11950 h].
6. V. A. Zagorewskii und D. A. Zykov, *Zh. Obshch. Khim.* **33** (1963) 2469.
7. J. B. Hendrickson, D. J. Cram und G. H. Hammond, *Organic Chemistry*, McGraw-Hill, New York, 1970, S. 535; A. Streitwieser, Jr. und C. H. Heathcock, *Organische Chemie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1980, S. 591.
8. G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres und R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **7** (1961) 88.
9. E. Reiner und V. Simeon, *Croat. Chem. Acta* **47** (1975) 321.

#### SAŽETAK

##### Priprava i svojstva nekih derivata *p*-hidroksiacetofenona

S. Kovač, V. Rapić, †M. Lačan i E. Reiner

Ovisno o reakcijskim uvjetima, *p*-hidroksiacetofenon i dietil-oksalat, u nazočnosti natrij-etoksida, daju 4-(*p*-hidroksifenil)-2,4-dioksobutan-kiselinu (III) i odgovarajući ester (IV). Djelovanjem metil-izocijanata uz trimetilamin na 1-(*p*-hidroksifenil)-1,3-butandion (II) odn. III nastaje 1-[*p*-(*N*-metilkarbamoiloksi)fenil]-1,3-butandion (V) i *N*-metil-4-[*p*-(*N*-metilkarbamoiloksi)fenil]-2,4-dioksobutanamid (VI). Spoj VI inhibirao je aktivnost acetilkolinesteraze; spoj V nije pokazao inhibitorna svojstva.