

138. Kyosuke Tsuda,*¹ Susumu Ikuma,*² Masaaki Kawamura,*² Ryuji Tachikawa,*² und Tetsuo Miyadera*²: Über Tetrodotoxin. VI. Mitteilung.*^{3, 1)} 2-Amino-6-methylchinazolin als Abbauprodukt von Tetrodotoxin.

(*Institut für angewandte Mikrobiologie der Universität Tokio,*¹ und Takamine Forschungslaboratorium, Sankyo-AG.*²*)

In den vorangegangenen Mitteilungen dieser Reihe^{1,2)} wurden die Isolierung und die Strukturbestimmung eines Abbauproduktes von Tetrodotoxin, das sich durch die Einwirkung der Alkalilauge auf diesen Stoff gewinnen ließ, beschrieben; es wurde dabei geschlossen, daß dieses Abbauprodukt, nämlich 2-Amino-6-hydroxymethyl-8-chinazolinol, das Grundgerüst des Tetrodotoxins darstellt.

Inzwischen wurde das Tetrodotoxin einer reduktiven Abbaureaktion unterworfen, wobei sich auch als Reaktionsprodukt das 2-Aminochinazolinderivat isolieren ließ. Im Folgenden berichten die Autoren über weitere Ergebnisse ihrer Arbeit, die sie bei dieser Abbaureaktion erhalten haben.

Beim Erhitzen von Tetrodotoxin mit Jodwasserstoffsäure und rotem Phosphor ergab sich ein kristallinisches Produkt, welches ein Jodhydrat einer Base darstellte. Es gelang den Autoren nicht, dieses Salz bzw. dessen entsprechende freie Base durch Umkristallisation in analysenreiner Form zu gewinnen, sodaß sie die freie Base ohne weitere Reinigung mit Kaliumcyanoferrat (III) behandelten. Das hierbei erhaltene Produkt ließ sich durch Chromatographieren an Aluminiumoxyd und darauffolgende Umkristallisation reinigen. Es kristallisierte aus Chloroform in gelben Nadeln vom Schmp. 232~234° aus. Die Analyse ergab eine Bruttoformel von C₉H₉N₃. Im UV-Spektrum ließen sich zwei deutlich ausgebildete Maxima, nämlich bei 233.5 und 357.5 m μ feststellen, was dem UV-Spektrum des 2-Aminochinazolins ähnlich ist (siehe Fig. 1 und 2).

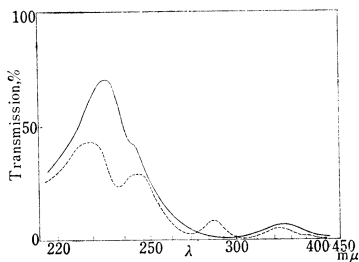


Fig. 1. UV-Spektren von 2-Aminochinazolin

— in EtOH
- - - in 0.1N HCl-EtOH

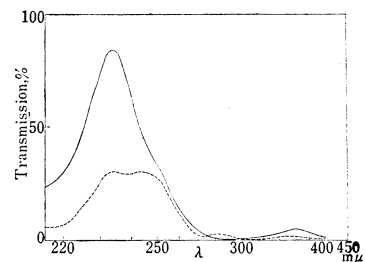


Fig. 2. UV-Spektren von 2-Amino-6-methylchinazolin

— in EtOH
- - - in 0.1N HCl-EtOH

Die erwähnte Analogie in Bezug auf die Spektren, sowie das Analysen-Ergebnis machten es wahrscheinlich, daß das Produkt ein Methylderivat des 2-Aminochinazolins darstellt. Für die Verknüpfung der Methylgruppe ließ sich vorzugsweise auf die Stelle

*¹ Yayoicho, Bunkio, Tokio (津田恭介).

*² Nishishinagawa, Shinagawaku, Tokio (生熊 晋, 河村正朗, 太刀川隆治, 宮寺哲男).

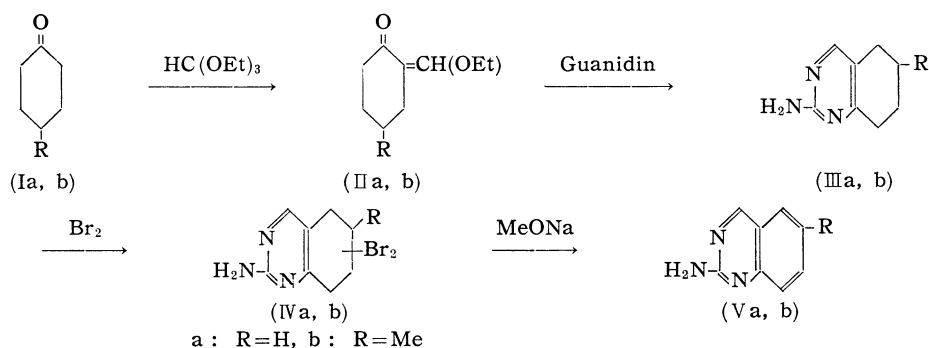
*³ Untersuchungen der Eierstockextrakte von Kugelfischen, XV Mittel.

1) Dieses Bulletin, 10, 865 (1962).

2) Dieses Bulletin, 8, 262 (1960); 10, 856 (1962).

an C₆ schließen, da das Tetrodotoxin bei der hydrolytischen Abspaltung mit Alkalilauge das 2-Amino-6-hydroxymethyl-8-chinazolinol ergibt.¹⁾

Zur Synthese von 2-Amino-6-methylchinazolin läßt sich die übliche Darstellungsmethode^{1,2)} verwenden, die aus der Synthese des substituierten *o*-Aminobenzaldehyds und seiner Ringschlußreaktion mit Guanidin besteht. Diesmal aber haben die Autoren als Ausgangsmaterial statt des substituierten *o*-Aminobenzaldehyds eine Verbindung der Cyclohexanonreihe verwendet. Kondensation des Cyclohexanons (Ia) mit *o*-Ameisensäureester führte zum 2-Aethoxymethylenderivat (IIa), das bei der Reaktion mit Guanidin das 2-Amino-5,6,7,8-tetrahydrochinazolin (IIIa) ergab. Letzteres reagierte mit Brom unter Bildung eines Dibromides (IVa), dessen Bromatome sich durch Einwirkung von Natriummethylat unter Bildung des Aromatenrings als Bromwasserstoff abspalten ließen. Das erhaltene Produkt erwies sich auf Grund aller Daten als identisch mit dem authentischen Präparat von 2-Aminochinazolin (Va).³⁾



4-Methylcyclohexanon (Ib) ließ sich in analoger Weise über die Zwischenstufen, nämlich (IIb), (IIIb) und (IVb), schließlich in 2-Amino-6-methylchinazolin (Vb) überführen. Das letztere war auf Grund aller Daten identisch mit dem Abbauprodukt von Tetrodotoxin.

Experimentelles*4

Einwirkung von Jodwasserstoffsäure-Phosphor auf Tetrodotoxin—500 mg Tetrodotoxin wurden in 200 ccm frisch bereiteter HI (d 1.7) gelöst, mit 250 mg roten P versetzt und 2 Std. unter N₂-Strom in der Siedehitze gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde heiß filtriert und das Filtrat im Eisschrank stehengelassen, wobei gelbe Kristalle ausfielen. Sie wurden abgesaugt, mit HI und dann mit Et₂O gewaschen und im Vakuum getrocknet. Schmp. über 260°. Ausbeute 320 mg. Sie sind leicht löslich in H₂O. Als schwer zu reinigende Substanz wurden sie sofort der Elementaranalyse unterworfen. C₉H₁₁O₂N₃·HI—Ber.: C, 33.64; H, 3.73; N, 13.08. Gef.: C, 32.19; H, 3.80; N, 12.56. Aus der Mutterlauge dieser Kristalle wurden weitere 270 mg des gleichen Rohproduktes erhalten. Ca. 500 mg des obengenannten Produktes wurden in 20 ccm MeOH gelöst und mit 1-proz. CH₂N₂-Et₂O versetzt, wobei weiße pulverige Kristalle ausfielen. Sie wurden abgesaugt, mit MeOH-Et₂O gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 200 mg. 150 mg dieser freien Base wurden in 10 ccm H₂O gelöst, mit 1 ccm 33-proz. KOH und dann 4 ccm einer Lösung von 5 g K₃Fe(CN)₆ in 40 ccm H₂O versetzt und 1 Std. verrührt. Das Reaktionsprodukt ließ sich mit CHCl₃ aufnehmen. Der CHCl₃-Rückstand (80 mg) wurde an Al₂O₃-Säule (1 × 10 cm) chromatographiert. Beim Eluieren mit CHCl₃ ließ sich nur eine einzige Fraktion gewinnen. Für die Feststellung der Adsorptionszone im Chromatogramm eignete sich die Quarzlampe; gelbe Kristalle vom Schmp. 225~230°. Ausbeute 60 mg. Durch Umkristallisieren in CHCl₃ gingen sie in gelbe Prismen vom Schmp. 232~234°. Ausbeute 45 mg.

*4 Alle Schmelzpunkte sind im Flüssigkeitsbad bestimmt und nicht korrigiert. Für die Elementaranalysen bzw. Infrarot-Spektalaufnahmen danken die Autoren den Herren Dr. T. Onoe, Dr. H. Shindo und H. Higuchi (Takamine Laboratorium) bestens.

3) M. J. S. Dewar : J. Chem. Soc., 1944, 619; H. J. Rodda : *Ibid.* 1956, 3509.

$C_9H_9N_3$ —Ber. : C, 67.90; H, 5.70; N, 26.40. Gef. : C, 67.94; H, 5.85; N, 26.68. UV λ_{\max}^{EtOH} $m\mu(\epsilon)$: 233.5 (50100), 359.5 (3840).

2-Amino-5,6,7,8-tetrahydrochinazolin (IIIa)—98 g Cyclohexanon (Ia), 260 g HC(OEt)₃ und 290 g Ac₂O wurden vermischt und 12 Std. bei 140~160° erhitzt, wobei sich ein bei 70~80° siedende Destillat entfernen ließ. Nachdem die überschüssigen Ausgangsmaterialien abdestilliert wurden waren, wurde der Rückstand im Vakuum destilliert, wobei sich das 2-Aethoxymethylencyclohexanon (IIa) vom Sdp. 77~78°/1 mmHg als Hauptprodukt gewinnen ließ. Ausbeute 7.6 g. 1.12 g Na wurden in 120 ccm EtOH gelöst, mit 4.66 g Guanidin Hydrochlorid versetzt und das ausgeschiedene NaCl durch Filtrieren abgetrennt. Diese Guanidin-Lösung wurde unter Umrühren in die eisgekühlte Lösung von 7.55 g (IIa) in 50 ccm EtOH eingetropft. Nachdem alle Lösung eingetropft wurden war, wurde das Reaktionsgemisch noch 1 Std. unter Kühlung und weiter 3 Std. bei Zimmertemperatur verrührt. Nach dem Abdestillieren von EtOH wurde der Rückstand mit H₂O versetzt und die ausgeschiedene Kristalle abgesaugt. 2-Amino-5,6,7,8-tetrahydrochinazolin ging durch Umkristallisieren in 95-proz EtOH in Kristalle vom Schmp. 211~212° über. Ausbeute 3.9 g. $C_9H_{11}N_3$ —Ber. : C, 64.40; H, 7.43; N 28.17. Gef. : C, 64.14; H, 7.24; N, 28.24. UV λ_{\max}^{EtOH} $m\mu(\epsilon)$: 230.5 (16000), 304 (4640). IR (Nujol) cm^{-1} : 3320, 3170, 1665 (NH₂), 1565, 1600 (Aromatenring).

2-Aminochinazolin (Va)—1.24 g (IIIa) wurden in 40 ccm AcOH gelöst und unter Umrühren mit einer Lösung von 2.7 g Br₂ in 10 ccm AcOH versetzt, wobei erst nach 30 Min. alles Br₂ verbraucht wurde. Nach 2 stündigem Umrühren wurde AcOH im Vakuum abdestilliert und der Rückstand mit H₂O versetzt, wobei das 2-Amino-*x*-dibromotetrahydrochinazolin bromhydrat (IVa) ausfiel. Ausbeute 1.9 g. Es ließ sich aus EtOH umkristallisieren. Schmp. über 250°. $C_9H_9N_3Br_2 \cdot HBr$ —Ber. : C, 24.77; H, 2.60; N, 10.83. Gef. : C, 24.47; H, 2.55; N, 10.50.

6.5 g (IVa) HBr wurden in 200 ccm MeOH gelöst, mit einer Lösung von 1.55 g Na in 50 ccm MeOH versetzt und 9 Std. unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernung von MeOH wurde der Rückstand mit H₂O versetzt und die ausgeschiedene Kristalle aus EtOH umkristallisiert, wobei sie durch Umkristallisieren in EtOH in blaßgelbe Prismen vom Schmp. 201~202° übergingen. Sie erwiesen sich nach Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt, UV und IR als identisch mit dem authentischen Präparat von 2-Aminochinazolin.³⁾

2-Amino-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydrochinazolin (IIIb)—500 g Diäthoxymethylacetat⁴⁾ wurden zusammen mit 100 g 4-Methylcyclohexanon (Ib) bei 140° erhitzt und ein bei 78~90° siedendes Destillat entfernt. Das übriggebliebene Reaktionsgemisch wurde der Vakuumdestillation unterworfen, wobei sich das 2-Aethoxymethylen-4-methylcyclohexanon (IIb) vom Sdp. 135~140°/1 mmHg als Nachlauf gewinnen ließ. Ausbeute 11.8 g. 3.6 g Guanidin Hydrochlorid wurden mit einer Lösung von 0.9 g Na in 40 ccm EtOH umgesetzt. Die erhaltene Guanidin-EtOH Lösung wurde unter Kühlung in eine Lösung von 11.8 g (IIb) in 100 ccm EtOH eingetropft und 4 Std. bei Zimmertemperatur verrührt. Die ausgeschiedenen gelben Kristalle wurden abgesaugt und aus EtOH umkristallisiert; Schmp. 210~211°. Ausbeute 3.9 g. $C_9H_{13}N_3$ (IIIb)—Ber. : C, 66.22; H, 8.03; N, 25.75. Gef. : C, 65.89; H, 7.90; N, 25.54.

2-Amino-6-methylchinazolin (Vb)—3 g (IIIb) wurden in 20 ccm AcOH gelöst, mit 6 g Br₂ versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach Abdampfen von AcOH wurde der Rückstand mit EtOH versetzt, wobei er in gelben Kristalle überging. Ausbeute 5.4 g. Sie ließen sich aus EtOH umkristallisieren : Nadeln. Dieses gereinigte Bromhydrat wurde in EtOH gelöst, mit berechneter Menge von EtONa versetzt und das Reaktionsgemisch eingedampft. Der Rückstand wurde mit CHCl₃ aufgenommen und die CHCl₃-Lösung mit H₂O mehrmals gewaschen. Nach Trocknen mit Na₂SO₄ wurde die CHCl₃-Lösung eingedampft und der Rückstand aus MeOH umkristallisiert, wobei das 2-Amino-*x*-dibrom-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydrochinazolin (IVb) als Blättchen vom Schmp. 154° (Zers.) erhalten wurde. $C_9H_{12}N_3Br_2$ —Ber. : C, 33.78; H, 3.44; N, 13.15; Br, 49.8. Gef. : C, 33.84; H, 3.49; N, 13.21; Br, 49.84.

Die mit 0.65 g Na und 10 ccm gewonnene MeONa-Lösung wurde mit 3.4 g (IVb) versetzt und 10 Std. bei 80° erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft, mit H₂O versetzt, die ausgeschiedenen Kristalle abgesaugt und aus EtOH umkristallisiert. Das hierbei erhaltene 2-Amino-6-methylchinazolin (Vb) schmolz bei 234~235°. Ausbeute 220 mg. $C_9H_9N_3$ —Ber. : C, 67.84; H, 5.71; N, 26.40. Gef. : C, 68.06; H, 5.62; N, 26.02. UV λ_{\max}^{EtOH} $m\mu(\epsilon)$: 233.5 (46000), 359.5 (3580). IR (Nujol) cm^{-1} : 3344, 3155, 1661 (NH₂), 822 (CH-Waggungsschwingung). Nach Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt, IR und UV erwies sich (Vb) als identisch mit dem Abbauprodukt von Tetrodotoxin.

Zusammenfassung

Es wird die energische Reduktion von Tetrodotoxin mittels Jodwasserstoffsäure-Phosphor beschrieben. Das erhaltene Produkt erweist sich als identisch mit 2-Amino-6-methylchinazolin.

(Eingegangen am 19 Juni, 1962)

4) H. W. Post, E. R. Erickson : J. Org. Chem., 2, 260 (1937).