

in der Refraktion denen des bicyclischen Derivates, während sie in der Dispersion etwas niedriger sind. Der Einfluß in den Benzolkern eintretender Methylgruppen macht sich auch bei den Thiochromanonen in gleicher Weise wie bei den Thiochromanen und Thiochromenen spektrochemisch bemerkbar (Tab. III, 1, 3, 6). Der Einzelwert des Tetrahydrobenzo-thiochromanons (Tab. III 7) gestattet natürlich noch keinen sicheren Schluß auf die Konstitution, entspricht aber ungefähr der zu erwartenden Höhe. Die wesentlich höheren Werte für das 5.6-Benzo-thiochromanon (Tab. III, 8) stehen mit der spektrochemischen Eigenart eines derartig gebauten Naphthalin-Derivates in bester Übereinstimmung.

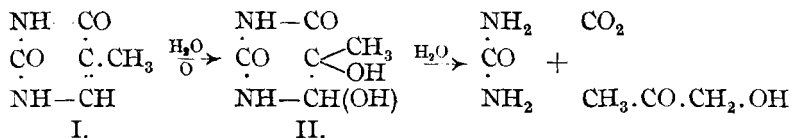
Marburg, Chemisches Institut.

306. Oskar Baudisch und David Davidson: Über den Mechanismus der Oxydation von Thymin; 4.5-Dioxy-hydrothymin (Thymin-glykol).

[Aus d. Rockefeller-Institut für medizin. Forschung.]
(Eingegangen am 3. Juli 1925.)

In diesen „Berichten“ wurde früher von Baudisch und Johnson¹⁾ mitgeteilt, daß die natürlich vorkommenden Pyrimidine, Thymin und Cytosin durch das System Ferrosulfat + Natriumbicarbonat + Luft (Oxydationsmethode von Baudisch) unter Bildung von Harnstoff und unbekanntem aliphatischen Verbindungen gespalten werden. Nur beim Thymin wurden nähere Angaben über die neben Harnstoff gebildeten Spaltungsprodukte gemacht, weil die hier entstandenen Reaktionsstoffe — Acetol und Brenztraubensäure — durch Farbenreaktionen leicht nachweisbar waren.

Vom Standpunkte des Nucleinsäure-, insbesondere des Pyrimidin-Stoffwechsels war es von größter Bedeutung, in den Mechanismus dieser oxydativen Spaltung näher einzudringen. Aus diesem Grunde befaßten sich Baudisch und Baß²⁾ mit der oxydativen Spaltung der Pyrimidine und wandten verschiedene Oxydationsmittel (Hydroperoxyd, Natrium-pentacyano-ferroat) mit ähnlichem Erfolge an. Bei der Verwendung von Jod in Natriumbicarbonat-Lösung zerfiel Thymin (I) außer in den immer auftretenden Harnstoff nur in Acetol, ohne die geringste Bildung von Brenztraubensäure. Baudisch und Baß stellten auf Grund der bisher gewonnenen experimentellen Ergebnisse ein Mechanismus-Schema der Spaltung auf, welches jedoch zunächst nur die Bildung von Harnstoff und Acetol ins Auge faßte.



Um diese Hypothese der primären Bildung von 4.5-Dioxy-hydrothymin (II) zu prüfen, war es nötig, diese bisher unbekannt gebliebene Verbindung

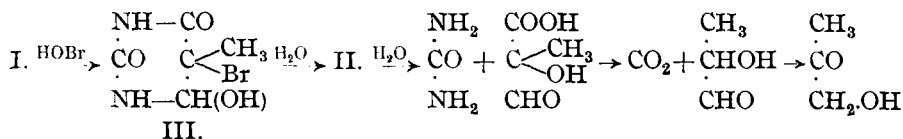
¹⁾ O. Baudisch und T. B. Johnson, B. 55, 18 [1921].

²⁾ O. Baudisch und L. W. Baß, Am. Soc. 46, 184 [1924].

zu synthetisieren und ihre Eigenschaften zu studieren. Unsere Versuche waren erfolgreich, und im Folgenden sollen die Darstellung und die Eigenschaften dieser Verbindung beschrieben werden.

Darstellung von Thymin-glykol (II).

Thymin (I) wird durch Bromwasser glatt in 5-Brom-4-oxy-hydrothymin (III) übergeführt:



Wir fanden, daß Brom-oxy-hydrothymin (III) von Alkalien (NaOH, Ba(OH)₂, Ag₂O) außerordentlich leicht angegriffen und dabei schon in der Kälte in ein brom-freies Produkt übergeführt wird. Nach den Reaktionen zu schließen, bildete sich Thymin-glykol. Die Isolierung dieser Substanz gelang jedoch erst, als feuchtes Silberoxyd in der Kälte zur Anwendung kam. Man erhielt nun in bester Ausbeute prachtvolle, weiße Krystalle, welche als 4.5-Dioxy-hydrothymin (II) identifiziert wurden. Thymin-glykol erinnert in seinem Aussehen sehr an Zucker. Es reduziert ammoniakalische Silberlösung und Fehlingsche Lösung und löst sich außerordentlich leicht in Wasser. Schmp; 220⁰ (unscharf).

Hydrolyse von Thymin-glykol.

Thymin-glykol ist gegenüber Alkalien sehr unbeständig. Bereits kochende Natriumbicarbonat-Lösungen zersetzt es in Harnstoff und Acetol.

Verwendet man für die Hydrolyse überschüssiges Ba(OH)₂, so wird ein Molekül CO₂ quantitativ als BaCO₃ ausgefällt.

Es muß hier die physiologisch wichtige Tatsache besonders betont werden, daß das gegenüber Alkalien oder Lichtenergie vollständig beständige Thymin durch den Eintritt von zwei Hydroxylgruppen in den Pyrimidin-Ring sehr alkali-empfindlich wird und der vorher stabile Ring auch in neutraler Lösung schon durch den Einfluß von strahlender Energie (Tageslicht oder Kohlenbogenlicht) zerfällt³⁾. Dabei bildet sich, zweifellos unter Abspaltung von CO₂ aus CH₃.C(OH)(COOH)(CHO), Milchsäure-aldehyd, der, wie Nef⁴⁾ und andere gezeigt haben, besonders unter dem Einfluß von Alkalien sehr leicht zu Acetol isomerisiert wird.

Die Bildung von Milchsäure-aldehyd ist in vieler Beziehung von größtem Interesse und wird deshalb auch noch genauer verfolgt werden.

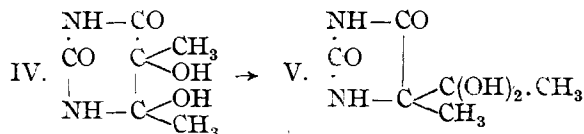
Reduktion von Thymin-glykol.

Behrend und Mitarbeiter⁵⁾ beschäftigten sich mit den Eigenschaften des 5-Methyl-thymin-glykols (IV) und sprachen die Vermutung aus, daß diese Verbindung vielleicht nur vorübergehend existiert und rasch in 5-Methyl-5-acetyl-hydantoin (V) umgewandelt wird, entsprechend dem Schema:

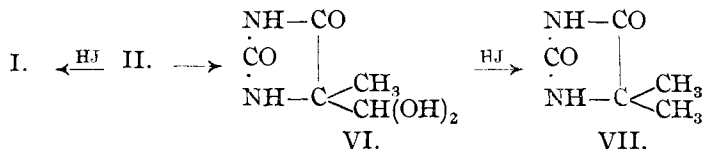
³⁾ L. W. Baß, Am. Soc. 46, 190 [1924].

⁴⁾ A. 335, 249 [1904].

⁵⁾ Kircher A. 335, 309 [1911]; Bremer A. 318, 190 [1909].



Nimmt man diese Umwandlung auch für das Thymin-glykol als richtig an, so müßte es rasch in 5-Methyl-5-formyl-hydantoin (VI) übergehen.

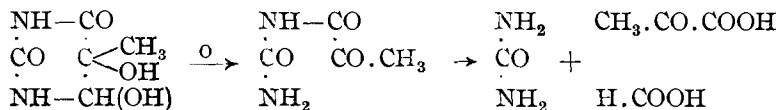


Um zu bestimmen, ob dem Thymin-glykol die Struktur II oder IV zukommt, wurde es mit Jodwasserstoffsäure reduziert. Es ist leicht einzusehen, daß sich, falls Thymin-glykol die Struktur II besitzt, durch Reduktion Thymin (I) zurückbilden muß, während im anderen Falle 5,5-Dimethyl-hydantoin (VII) gebildet werden müßte. Das Experiment ergab die Rückbildung von Thymin aus Thymin-glykol, womit bewiesen wurde, daß der Pyrimidin-Ring auch in der oxydierten Verbindung erhalten geblieben ist.

Oxydation von Thymin-glykol.

Baudisch und Johnson haben schon in der ersten Arbeit über die Oxydation von Pyrimidinen mitgeteilt, daß bei der Oxydation von Thymin neben Acetol auch Brenztraubensäure gebildet wird.

Bei der Hydrolyse von Thymin-glykol entsteht jedoch keine Spur Brenztraubensäure. Die Spaltung gleicht jener von Baß und Baudisch beschriebenen Spaltung von Thymin mit Jod in natriumbicarbonat-alkalischer Lösung, bei welcher ebenfalls nur Acetol und Harnstoff entsteht. Auf Grund dieser experimentellen Tatsachen durfte man vermuten, daß bei der Oxydation die gebildete Brenztraubensäure ein Spaltungsprodukt eines Oxydationsproduktes von Thymin-glykol ist. Um diese Annahme zu prüfen, wurde Thymin-glykol mit Natrium-pentacyano-aquo-ferroat (Aquo-Salz) und Luft oxydiert und das gebildete Oxydationsprodukt hydrolysiert. Man erhielt nun in der Tat neben Harnstoff und Acetol auch Brenztraubensäure. Obwohl wir das Zwischenprodukt der Oxydation von Thymin-glykol mit Aquo-Salz nicht isoliert haben, dürfte auf Grund theoretischer Erwägungen das folgende Formelschema den Mechanismus der Oxydation am besten wiedergeben:



Als Zwischenprodukt entsteht somit Formyl-pyruvyl-harnstoff, welcher bei der Hydrolyse Harnstoff, Brenztraubensäure und Ameisensäure bildet.

Zusammenfassung.

Thymin-glykol wurde dargestellt und seine Konstitution bewiesen. Bei der Hydrolyse zerfällt es quantitativ in Acetol, Harnstoff und Kohlen-säure. Bei der Oxydation entsteht ein Zwischenprodukt, welches bei der

Hydrolyse Brenztraubensäure, Harnstoff und Ameisensäure liefert. Auf Grund dieser experimentellen Ergebnisse darf man annehmen, daß bei der Oxydation von Thymin Thymin-glykol gebildet wird.

Beschreibung der Versuche.

Thymin wurde nach der Methode von Wheeler und McFarland⁶⁾, 4-Oxy-5-brom-hydrothymin nach einer modifizierten Methode von Jones⁷⁾ in der folgenden Weise hergestellt: 15 g fein pulverisiertes Thymin wurden in 150 ccm Wasser suspendiert und 7.5 ccm Brom hinzugegeben. Die Reaktion erfolgt augenblicklich und unter Abscheidung eines voluminösen Niederschlages. Nach Verschwinden der Brom-Schicht wird auf dem Wasserbad so lange erhitzt, bis alles in Lösung geht. Der notwendige Überschuß von Brom war noch während des heißen Filtrierens durch die rote Farbe der Lösung wahrnehmbar. Beim Erkalten schied sich Oxy-brom-hydrothymin (III) in langen, farblosen Prismen ab. Ausbeute 20.4 g.

0.1311 g Sbst. verbrauchten 11.67 ccm n_{10} -HCl.

$C_5H_7O_8N_2Br$. Ber. N 12.57. Gef. N 12.47.

Beim Kochen mit Natriumbicarbonat-Lösung zerfällt es leicht in CO_2 , Acetol und Harnstoff. Die Bildung von Kohlensäure läßt sich bei Anwendung von $Ba(OH)_2$ schön verfolgen, weil unlösliches $BaCO_3$ allmählich ausfällt.

4.5-Dioxy-hydrothymin (Thymin-glykol).

6.3 g fein pulverisiertes Oxy-brom-hydrothymin und feuchtes Silberoxyd, welches frisch aus 6.0 g Silbernitrat (man fällt heiß mit einem Überschuß von NaOH und wäscht sehr gründlich) hergestellt wurde, suspendiert man in 150 ccm Wasser und schüttelt 16 Stdn. auf der Maschine. Hierauf zentrifugiert man das Reaktionsgemisch, worauf der abgeschiedene Niederschlag in gleicher Weise mit Hilfe der Zentrifuge mit Wasser einige Male gewaschen wird. In die vereinigten Flüssigkeiten leitet man Schwefelwasserstoff und destilliert, ohne vorher zu filtrieren, das Ganze unter vermindertem Druck. Der Trockenrückstand wurde in 75 ccm warmem Wasser gelöst und unter Zugabe von wenig Blutkohle filtriert. Das farblose Filtrat wurde unter vermindertem Druck der Krystallisation überlassen. Es schieden sich lange, farblose Nadeln aus, welche mit wenig kaltem Wasser gewaschen wurden. Ausbeute 3.2 g (71 % der Theorie).

0.1068 g Sbst.: 0.1450 g CO_2 , 0.0496 g H_2O . — 0.1300 g, 0.1171 g Sbst. verbrauchten 16.27, 14.47 ccm n_{10} -HCl.

$C_5H_8O_4N_2$. Ber. C 37.48, H 5.04, N 17.50. Gef. C 37.02, H 5.19, N 17.53. 17.31.

Hydrolyse von Thymin-glykol.

A. Mit $NaHCO_3$: 1 g Thymin-glykol wurde mit 5 g Natriumbicarbonat und 100 ccm Wasser solange gekocht, bis 65 ccm überdestilliert waren. Das klare Destillat wurde mit überschüssigem Phenyl-hydrazin und Essigsäure versetzt. Es schied sich schon in der Kälte das Acetol-phenylosazon aus, und durch Erwärmen auf dem Wasserbad wurde die Abscheidung quantitativ. Umkrystallisiert aus Benzol-Ligroin-Gemisch, schmilzt es bei 150° (Mischung mit Typ).

⁶⁾ Wheeler und McFarland, J. Biol. Chem. **3**, 183 [1907].

⁷⁾ Jones, H. **29**, 20 [1900].

Der Destillationsrückstand riecht intensiv süßlich und gibt auf Zusatz von Xanthydrol den charakteristischen Niederschlag von Dixanthyl-harnstoff. Mit *o*-Nitro-benzaldehyd tritt jedoch keine Indigo-Bildung ein⁸⁾, was die Abwesenheit von Brenztraubensäure beweist.

B. Mit Ba(OH)₂. Für die Hydrolyse diente ein 300 ccm fassender Claisen-Destillierkolben, welcher mit einem Kühler und Vorlage verbunden war. Durch den einen Hals wurde Dampf in 100 ccm einer kochenden Ba(OH)₂-Lösung (bei 150° gesättigt) geleitet, während durch den anderen Hals eine Lösung von 1 g Thymin-glykol in 100 ccm Wasser tropfte. Die Ausscheidung von BaCO₃ erfolgte augenblicklich, während Acetol überdestillierte. In 15–20 Min. war die Reaktion vollendet. Das filtrierte und bei 110° getrocknete BaCO₃ wog 1.24 g (Theorie 1.23 g). Das Filtrat roch sehr stark eigentümlich süßlich und gab die Xanthydrol-Harnstoff-Reaktion. Es reduziert Fehlingsche Lösung und ammoniakalische AgNO₃-Lösung schon in der Kälte und gibt die charakteristische Baudische Reaktion auf Acetol⁹⁾.

Reduktion von Thymin-glykol.

1 g fein pulverisiertes Thymin-glykol wurde mit 7.5 ccm Jodwasserstoffsäure auf dem Wasserbade erhitzt, wodurch es zunächst vollkommen in Lösung ging. Beim weiteren Erhitzen schied sich ein krystallinisches Produkt ab. Nach 45 Min. wurde unterbrochen, das Reaktionsgemisch rasch abgekühlt und 150 ccm Äther und genügend Aceton hinzugegeben, um ein homogenes Gemisch zu erzeugen. Die Filtration ergab eine Ausbeute von 0.25 g fast farblosem Thymin, welches noch durch Umkrystallisieren gereinigt wurde. Alle bekannten Reaktionen auf Thymin wurden neben Typ genommen.

0.0777 g Sbst. verbrauchten 12.47 ccm n_{10} -HCl.

C₈H₈O₂N₂. Ber. N 22.23. Gef. N 22.48.

Oxydation von Thymin-glykol.

0.2 g Thymin-glykol und 0.2 g Natrium-pentacyano aquo-ferroat wurden in 50 ccm Wasser gelöst und durch das Ganze für 20 Stdn. Luft hindurchgeleitet. Ein Teil der Lösung wurde unter Zusatz von Natriumbicarbonat auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der Rückstand gab die bekannten Reaktionen auf Brenztraubensäure. Wurde Thymin-glykol direkt mit Natriumbicarbonat eingedampft, so gab der Rückstand keine Reaktionen auf Brenztraubensäure.

⁸⁾ Baeyer, B. 15, 2856 [1882].

⁹⁾ O. Baudisch, Bio. Z. 89, 279 [1918].