

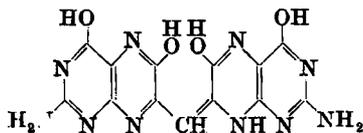
23. Rudolf Tschesche und Friedhelm Korte: Über Pteridine, VI. Mitteil.: Zur Kenntnis der Pterorhodin-Bildung*)

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstitutes der Universität
Hamburg]

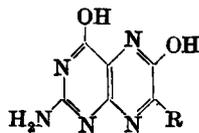
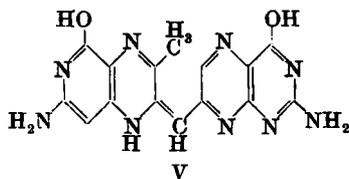
(Eingegangen am 17. November 1951)

Es wurde gezeigt, daß Pterorhodin auch aus Erythropterin + Xanthopterin durch Luftoxydation entsteht, und daß auch das Xanthopterin allein unter bestimmten Bedingungen Anlaß zur Pterorhodin-Bildung geben kann. Bei der Papierchromatographie des Xanthopterins wurden je nach der Art des Auftragens auf Papier verschiedene R_F -Werte beobachtet. Für das „saure Xanthopterin“ wurde festgestellt, daß es sich im Papierchromatogramm und UV-Spektrum von Xanthopterin nicht unterscheidet.

Bei der Autoxydation saurer Lösungen von Pteridinen aus Schmetterlingsflügeln bildet sich in wechselnder Menge ein violetter Farbstoff, das Pterorhodin (I), dessen Konstitution durch R. Purmann und M. Maas¹⁾ 1944 aufgeklärt worden ist. Sie erhielten bei der Oxydation des Pterorhodins mit Perhydrol in konz. Schwefelsäure Leukopterin (II) und Xanthopterin-carbonsäure, wodurch die Konstitutionsformel I wahrscheinlich gemacht wurde. 1949 wurden von P. B. Russel, R. Purmann, W. Schmitt und G. H. Hitchings²⁾ Synthesen des Farbstoffes mitgeteilt; danach bildet sich die Verbindung sehr leicht aus Xanthopterin und 9-Methyl-xanthopterin unter Autoxydation mit Luft oder mit H_2O_2 . Ferner entsteht Pterorhodin in sauren Lösungen aus Xanthopterin in Gegenwart von Aceton, Acetaldehyd



I

II: R = OH III: R = CO₂H IV: R = CH₃

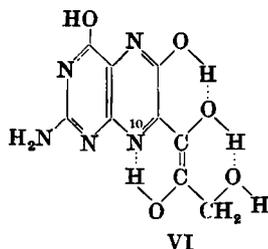
V

und sogar bei seiner Acetylierung mit Essigsäureanhydrid, wenn für die Gegenwart eines geeigneten Oxydationsmittels gesorgt ist. Weiter kann Pterorhodin aus 9-Methyl-xanthopterin (IV), 6-Oxy-2.4.5-triamino-pyrimidin und Oxalessigester gebildet werden. Die genannten Autoren vermuteten 9-Methyl-xanthopterin in den Flügeln verschiedener Schmetterlingsarten, die bei saurer Verarbeitung Pterorhodin schnell und in reichlichen Mengen liefern. 9-Methyl-

*) Hrn. Prof. Dr. A. Windaus zum 75. Geburtstag gewidmet.

¹⁾ A. 556, 186 [1944]. ²⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 71, 3412 [1949].

xanthopterin³⁾ konnte inzwischen von uns in *Gonepteryx rhamni* nachgewiesen und als das schon länger bekannte Chrysopterin erkannt werden. P. Karrer und B. I. Nicolaus⁴⁾ zeigten vorher, daß auch 8- und 9-Methyl-2-amino-6-oxypiperidin bei gemeinsamer Oxydation mit Luft einen ähnlichen Farbstoff, das Methyl-pteridinrot, ergeben, dem die Autoren die Formel V zuerteilten. Während so die Frage der Pterorhodin-Entstehung aus Xanthopterin und 9-Methyl-xanthopterin geklärt erscheint, war bisher noch unentschieden, ob auch Xanthopterin allein und vor allem Erythropterin (VI) Anlaß zur Farbstoffbildung geben können⁵⁾.



F. G. Hopkins⁶⁾ erhielt Pterorhodin ohne Ausnahme, wenn auch in wechselnden Mengen aus etwa 30 verschiedenen blaßgelben bis rotorangefarbenen Pieridenarten, und äußerte sich zu dieser Frage wie folgt: „It may be said, that the most probably „classical“ xanthopterin that from the species employed by Wieland and by Schöpf when in its pure native form yields none“. Doch vermutet er, daß bei der Aufarbeitung — insbesondere durch die Behandlung mit heißem Barytwasser — das Molekül des Xanthopterins so verändert wird, daß Pterorhodin entstehen kann. Daß Erythropterin eine Vorstufe des Pterorhodins sein kann, hält er für sicher: „The above results seem adequate to show that erythropterin may be the chief source of the purple substance...“.

Dagegen nehmen Purrmann und Maas¹⁾ an, daß synthetisches Xanthopterin und Xanthopterin-Barium kein Pterorhodin ergeben. Sie fassen zusammen: „Xanthopterin ist keine Vorstufe des Pterorhodins und der hartnäckige Begleiter des Xanthopterins im Xanthopterin-Barium der Pieriden, der Pterorhodin ergibt, ist auch nicht Erythropterin. Ob neben diesem Xanthopterinbegleiter Erythropterin auch eine Vorstufe ist, bleibt zweifelhaft“.

Mit der Auffindung des Chrysopterins als dem „hartnäckigen“ Begleiter des Xanthopterins in den Flügeln von Pieriden hat das Problem eine gewisse Klärung erfahren, doch schien es uns wünschenswert zu prüfen, ob auch Xanthopterin und Erythropterin Pterorhodin ergeben können. Wir haben dabei folgendes festgestellt: Reines Xanthopterin gibt unter den üblichen Bedingungen der Pterorhodin-Bildung (Erhitzen mit $n/4$ HCl) keinen violett-roten Farbstoff. Zersetzt man jedoch das Bariumsalz des Xanthopterins mit 50-proz. Schwefelsäure so, daß sich die Lösung mit dem Bariumsulfat erwärmt, so bildet sich Pterorhodin. Zersetzt man das Bariumsalz vorsichtig mit n H_2SO_4 und filtriert so ab, daß auf die eine Seite des Trichters Sonnenlicht fällt, so ist diese dem Licht zugewandte Seite deutlich tiefer rot als der dem Licht abgewandte Teil. Die Farbstoff-Bildung wird also im Licht beschleunigt. Dabei ist es gleichgültig, ob man Xanthopterin natürlichen oder synthetischen Ursprungs verwendet. Wir haben bisher kein Xanthopterin in den

³⁾ R. Tschesche u. F. Korte, B. 84, 641 [1951]. ⁴⁾ Helv. chim. Acta 34, 1029 [1951].

⁵⁾ Wir geben hier das Erythropterin in einer neuen Chelatformel wieder, die dem einen von uns H. G. Khorana, Cambridge (England), vorgeschlagen hat. Sie scheint uns besser die bemerkenswerte Beständigkeit dieser Endiolverbindung wiederzugeben als die früher von uns verwendete, in der nur das H-Atom der endständigen OH-Gruppe der Seitenkette Chelat-Bindung mit dem N¹⁰ des Pyrazinringes eingegangen ist. Mr. Khorana hat uns zur Bekanntgabe seines Vorschlages ermächtigt.

⁶⁾ Proc. Roy. Soc. [B] 180, 359 [1942].

Händen gehabt, das sich anders verhielt. Durch die liebenswürdige Vermittlung von Hrn. Dr. H. Henecka, Elberfeld, kamen wir in den Besitz von Xanthopterin, das von Koschura dargestellt worden war. Auch dieses zeigte die Pterorhodin-Bildung. Wir vermuten, daß unter den oben beschriebenen Bedingungen eine Spaltung des Moleküls eintritt — möglicherweise unter Auftreten von Glyoxylsäure —, die dann entsprechend den Angaben von Russel und Mitarbb.²⁾ Pterorhodin ergibt. Nach unseren Erfahrungen scheint Barytwasser das Xanthopterin nicht zu zersetzen, doch findet durch stärkere Säuren allmählich Spaltung des Xanthopterins statt, auf die Licht möglicherweise beschleunigend wirkt. Die Farbstoffbildung läßt sich durch Antioxydantien, wie Ascorbinsäure oder Schwefeldioxyd verhindern. Im Gegensatz zu der Pterorhodin-Bildung aus Xanthopterin und 9-Methyl-xanthopterin mit Luft erfolgt sie aus Xanthopterin allein langsamer und nur in dem Ausmaß, in dem diese Verbindung Zersetzung erleidet und ein Oxydationsmittel zur Verfügung steht.

Die Frage, ob aus Erythropterin Pterorhodin gebildet werden kann, ist zuletzt von R. Purrmann und F. Eulitz⁷⁾ diskutiert worden. C. Schöpf und E. Becker⁸⁾ wie auch Hopkins⁶⁾ halten Erythropterin für eine Vorstufe, Purrmann und Eulitz⁷⁾ zeigten jedoch, daß aus reinem Erythropterin beim Erhitzen in $n/4$ HCl kein Pterorhodin entsteht, und schlossen daraus, daß Erythropterin allenfalls ein Teil einer Vorstufe sein könnte. Bei der Kondensation von Erythropterin mit 6-Oxy-2.4.5-triamino-pyrimidin fanden sie jedoch kein Pterorhodin.

Wir benutzten nun als Kondensationspartner des Erythropterins das Xanthopterin und erhielten beim Erhitzen im sauren Medium Pterorhodin. Entsprechend wie das Erythropterin verhält sich 6.8-Dioxy-2-amino-9-[α -oxy-acetonyl]-pteridin⁹⁾. Die Kondensation der zwei letztgenannten Stoffe mit Xanthopterin geht zwar nicht ganz so schnell, aber mit ähnlicher Leichtigkeit wie die des 9-Methyl-xanthopterins mit Xanthopterin. Die von den verschiedenen Bearbeitern der Schmetterlingsfarbstoffe mitgeteilten Befunde lassen sich nun zwanglos deuten.

Es wird immer dann eine Pterorhodin-Bildung zu erwarten sein, wenn ein in 9-Stellung substituiertes 6.8-Dioxy-2-amino-pteridin mit einem in 9-Stellung unsubstituierten 6.8-Dioxy-2-amino-pteridin in Reaktion tritt und dieser Substituent für die Farbstoff-Bildung brauchbar ist. Ist die 9-Stellung in beiden Molekülen unsubstituiert, so genügt die Anwesenheit eines Moleküls, das unter oxydativen Bedingungen eine CH-Brücke liefern kann (Essigsäure, Aceton, Acetaldehyd u. a.), um die Pterorhodin-Bildung möglich zu machen¹⁰⁾.

Wir möchten an dieser Stelle noch auf eine andere Beobachtung am Xanthopterin hinweisen, bei der wir zuerst einen Zusammenhang mit der Pterorhodin-Bildung vermuteten, die aber wahrscheinlich ein gesondertes Phänomen darstellt. In einer früheren Arbeit³⁾ berichteten wir über die Papierchromato-

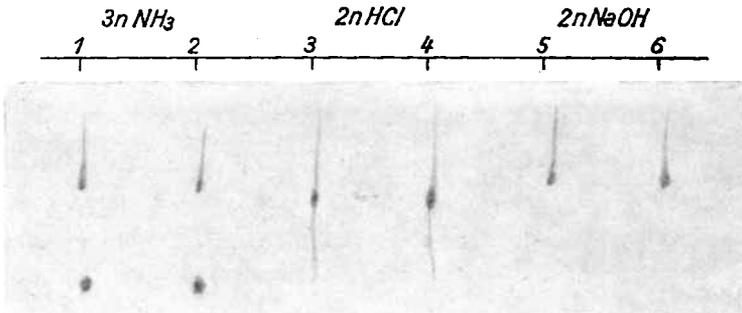
⁷⁾ A. 559, 169 [1948].

⁸⁾ A. 524, 49 [1936].

⁹⁾ B. 84, 77 [1951].

¹⁰⁾ Wie weit dabei auch an dem Brücken-C-Atom homologe Pterorhodine entstehen, bleibt zu untersuchen.

graphie des Xanthopterins. Dabei fanden wir in Übereinstimmung mit A. G. Renfrew und P. C. Piatt¹¹⁾ den R_F -Wert 0.68. Als wir jetzt 6 den verschiedensten Quellen entstammende Xanthopterinproben papierchromatographisch untersuchten, zeigte sich neben diesem Fleck noch ein weiterer, der jedoch einen tieferen R_F -Wert hat. Je nach der Vorgeschichte des Xanthopterins kann man auf dem Papier verschiedene Flecke beobachten. So liefert ein Xanthopterin in $2n$ HCl gelöst, dann auf Papier aufgetragen und mit 3-proz. wäßrigem Ammoniumchlorid entwickelt, bevorzugt einen Fleck mit dem R_F -Wert 0.42. Xanthopterin in $2n$ NaOH gelöst, zeigt einen einzigen Fleck mit dem R_F -Wert 0.38. Löst man Xanthopterin in $3n$ NH_3 , so entstehen stets zwei Flecke mit den R_F -Werten 0.39 und 0.68 (Abbild.). Diesen zweiten Fleck kann man sehr schwach angedeutet auch bei dem Xanthopterin, gelöst in $2n$ HCl beobachten. Es ist auffallend, daß der Fleck mit dem R_F -Wert 0.68 kreisrund abgegrenzt ist, wogegen die anderen Flecke mit dem R_F -Wert um 0.39 mehr oder weniger stark verschmiert erscheinen. Eine papierchromatographische Identifizierung von 9-Methyl-xanthopterin neben Xanthopterin gelingt unter genau vergleichbaren Bedingungen durch Ausmessen der Fluoreszenzintensitäten der beiden Flecke, wenn das 9-Methyl-xanthopterin mindestens 20% der Xanthopterinmenge ausmacht.



Abbild. Papierchromatogramm des Xanthopterins: 1, 2 gelöst in $3nNH_3$, 3, 4 gelöst in $2nHCl$, 5, 6 gelöst in $2nNaOH$

Bei der zunehmenden Anwendung der Papierchromatographie zur Identifizierung von Pteridinen in Naturprodukten scheint uns diese Feststellung zur Vermeidung von Irrtümern von Bedeutung.

Ob es sich bei den verschiedenen Flecken des Xanthopterins um sich langsam umwandelnde Modifikationen, oder um dissoziierte und nicht dissoziierte Formen dieser Verbindung handelt, sei dahingestellt. Es kann dabei vielleicht der Einfluß des Papiers nicht außer acht gelassen werden, auch wenn der pH -Wert der absteigenden Lösung durch Ammoniumchlorid bestimmt ist. Wichtig ist in diesem Zusammenhang noch, daß das 9-Methyl-xanthopterin stets nur einen einzigen Fleck an gleicher Stelle auf dem Papier ergibt, unabhängig davon, in welcher Lösung die Verbindung aufgetragen wird. Hier

¹¹⁾ Journ. Amer. Pharm. Assoc. 12, 657 [1950].

scheint möglicherweise ein *ortho*-Effekt der CH_3 -Gruppe in Erscheinung zu treten. Ob diese Vorstellungen zu Recht bestehen, müssen weitere Untersuchungen zeigen*).

Schöpf und Becker⁸⁾ beschrieben 1936 ein „saurer Xanthopterin“, das sich von dem normalen Xanthopterin durch seinen mehr sauren Charakter unterscheiden sollte. Hr. Prof. Dr. C. Schöpf war so liebenswürdig, uns eine Probe dieses „sauren Xanthopterins“ zur Verfügung zu stellen, das wir papierchromatographisch und im UV-Spektrum untersuchten. Dabei zeigte es gegenüber dem normalen Xanthopterin keine Abweichungen.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Kondensation von Erythropterin mit Xanthopterin: 365 mg Erythropterinsulfat werden mit 280 mg Xanthopterin in 300 ccn $n/4$ HCl unter Durchleiten von Luft durch eine Fritte (20 Luftblasen je Min.) auf 90° erhitzt. Aus der roten Lösung fällt nach etwa 30 Min. eine rotviolette Substanz in der Hitze aus. Nach 1 Stde. wird abzentrifugiert, die ausgefallenen Flocken werden mit Alkohol u. Aceton gewaschen; Ausb. 100 mg. Im UV-Spektrum und in den Löslichkeitseigenschaften verhält sich das Kondensationsprodukt wie Pterorhodin. Mit Natriumamalgam in Wasser wird es farblos, bei der Oxydation mit Perhydrol¹⁾ entsteht Xanthopterincarbonsäure und Leukopterin.

Kondensation von 6.8-Dioxy-2-amino-9-[α -oxy-acetyl]-pteridin mit Xanthopterin: 270 mg 6.8-Dioxy-2-amino-9-[α -oxy-acetyl]-pteridin werden mit 280 mg Xanthopterin in 300 ccn $n/4$ HCl unter Durchleiten von Luft durch eine Fritte (20 Luftblasen je Min.) erhitzt. Nach 1 Stde. zentrifugiert man ab und erhält 70 mg Pterorhodin in violettroten Flocken. Das UV-Spektrum und die Löslichkeitseigenschaften entsprechen dem Pterorhodin.

Pterorhodin aus Xanthopterin: 1 g synthet. Xanthopterin wird in 50 ccn konz. Schwefelsäure 2 Stdn. auf 120° erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung rot. Anschließend verdünnt man mit Wasser auf 1 l und erhitzt noch 3 Stdn. unter Durchleiten eines kräftigen Luftstroms (60 Luftblasen je Min.) auf 90°. Dabei fallen dunkelrote Flocken aus, die nach 3tägigem Stehen abzentrifugiert werden; Ausb. 40 mg. Die Löslichkeitseigenschaften und das UV-Spektrum entsprechen dem Pterorhodin.

Diese 40 mg werden in 0.4 ccn konz. Schwefelsäure gelöst, und mit einer gekühlten Lösung von 1.5 ccn konz. Schwefelsäure und 0.07 ccn Perhydrol versetzt. Man läßt 40 Min. bei Zimmertemperatur stehen, gießt auf 30 g Eis, schleudert ab und wäscht mit Alkohol und Aceton; Ausb. 22 mg. Diese werden 2mal in 2 ccn normaler Kaliumcarbonat-Lösung aufgekocht, und die gelbe Lösung, die wie Xanthopterin fluoresciert, von dem braunen Rückstand abzentrifugiert. Die Lösung wird mit 3 ccn Wasser verdünnt und in 4 ccn 2n HCl heiß eingetroppt. Dabei erhält man 5 mg einer gelben, teilweise kristallinen Substanz, die das UV-Spektrum der Xanthopterincarbonsäure gibt. Die Fluoreszenz- und Löslichkeitseigenschaften stimmen ebenfalls mit denen dieser Carbonsäure überein. Der braune Rückstand wird mit 10 ccn $n/10$ NaOH gelöst und in 5 ccn siedende 2n HCl eingetroppt. Dabei erhält man 7 mg einer farblosen Substanz, die das UV-Spektrum und die Löslichkeitseigenschaften des Leukopterins zeigt.

*) Anm. b. d. Korrektur (11. I. 52): Während der Korrektur wurde uns eine Arbeit von M. A. Shou, Arch. Biochem. 26, 10 [1950], im Referat zugänglich, nach dem Xanthopterin eine Keto-Enol-Tautomerie an den C-Atomen 8 und 9 aufweisen soll. Bei höheren pH -Werten liegt das Pteridin in der Enolform vor, während in saurer Lösung bei Zimmertemperatur ein Gleichgewicht 1:1 von undissoziiertem Enol und von der Ketoform besteht. Die Umwandlung der einen in die andere Form verläuft verhältnismäßig langsam, während die Dissoziation in die Enolform sofort eintritt. Diese Annahmen wurden nach den Messungen der UV-Absorption bei verschiedenen pH -Werten gemacht. Die Auffindung zweier Flecke bei der Papierchromatographie scheint die Befunde von Shou zu unterstützen.

Papierchromatographie: Zur Papierchromatographie benutzten wir das Papier von Schleicher und Schüll, Nr. 2043a, trugen jeweils 3 Tropfen zu je 50 mm einer Lösung von 1 mg in 10 ccm wäBr. 3*n* bzw. 2*n* NaOH oder 2*n* HCl auf und entwickelten absteigend 6 Stdn. mit 3-proz. wäBr. Ammoniumchlorid.

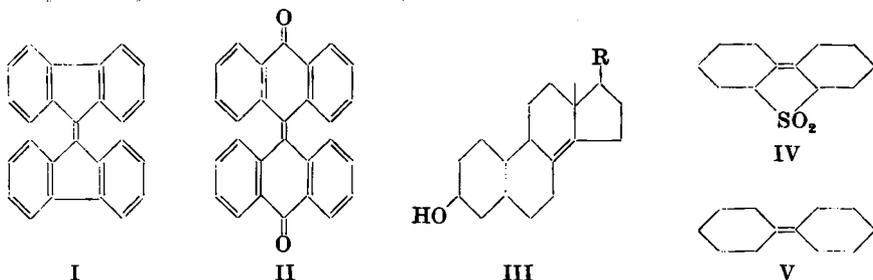
24. Rudolf Criegee, Emanuel Vogel und Herwig Höger: Kohlenwasserstoffe mit intercyclischen Doppelbindungen

[Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Karlsruhe]
(Eingegangen am 20. November 1951)

Die Darstellung von drei Vertretern einer neuen Klasse von Olefinen wird beschrieben.

Unter „intercyclischen“ Doppelbindungen verstehen wir solche, die zwei nicht miteinander kondensierte Ringe verbinden. Der Name tritt gleichwertig neben die alten Bezeichnungen „cyclische“ und „semicyclische“ Doppelbindungen.

Einige Verbindungen dieser Art sind bekannt. Als Beispiele seien Dibiphenyl-äthen (I) und Dianthron (II) genannt. Diese beiden Körper stellen aber insofern Sonderfälle dar, als in ihnen die Doppelbindung allseitig mit aromatischen Kernen in Konjugation steht. Auch Verbindungen wie α -Ergosterol (III) oder Faecosterin¹⁾ enthalten keine reine intercyclische Doppelbindung, da diese gleichzeitig Bestandteil eines Ringes, also „cyclisch“ ist. Das gleiche gilt für das Sulfon IV^{1a)}.



Ein typischer Vertreter mit reiner intercyclischer Doppelbindung dagegen ist das Bis-cyclohexyliden (V). Wir interessierten uns für diesen Kohlenwasserstoff im Rahmen einer anderen Arbeit, beabsichtigen aber, die Untersuchung seiner chemischen und physikalischen Eigenschaften sowie derjenigen seiner Ringhomologen in breiterem Rahmen durchzuführen, um diese noch fast unbekannte Klasse von Olefinen näher kennenzulernen.

Bis-cyclohexyliden (oder Cyclohexyliden-cyclohexan) ist bereits mehrere Male in der Literatur beschrieben, in Wirklichkeit aber erst einmal gewonnen, wenn auch nicht in seiner Konstitution erkannt worden. P. Sabatier und A. Maible²⁾ glaubten die Ver-

¹⁾ H. Wieland, F. Rath u. H. Hesse, A. 548, 34 [1941].

^{1a)} C. C. Bolt u. H. J. Backer, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 55, 898 [1936].

²⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 188, 1323 [1903], 154, 1392 [1912]; Bull. Soc. chim. France [3] 33, 76 [1905].