

Gordon B. Barlin<sup>\*)</sup> und Wolfgang Pfeleiderer<sup>\*\*)</sup>

Pteridine, XLVII<sup>1)</sup>

## Struktur von Xanthopterin-peroxid und seine Umwandlung in Melanurensäure

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Stuttgart, dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz und dem Department of Medical Chemistry, John Curtin School of Medical Research, Australian National University, Canberra, Australien

(Eingegangen am 9. Juni 1971)

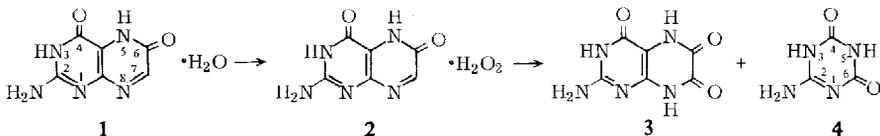
Die Struktur des „Xanthopterin-peroxids“ (2) wird diskutiert und für seine Umwandlung in Melanurensäure (4) mittels  $H_2O_2$  auf der Basis von  $^{14}C$ -Experimenten ein Mechanismus vorgeschlagen.

Pteridines, XLVII<sup>1)</sup>

### The Structure of Xanthopterin-peroxide and its Transformation into Melanuric Acid

The structure of „xanthopterin-peroxide“ (2) is discussed and a mechanism for its transformation to melanuric acid (4) by hydrogen peroxide is proposed on the basis of  $^{14}C$ -experiments.

1939 berichteten *Wieland* und *Purmann*<sup>2)</sup> über ein „Xanthopterin-peroxid“ (2), welches sie aus dem Bariumsalz des gelben Flügelpigments (1) des Zitronenfalters mittels Perhydrol in Eisessig erhielten und welches beim Erhitzen in überschüssigem  $H_2O_2$  neben Leukopterin (3) in geringer Ausbeute Melanurensäure (2-Amino-4,6-dioxo-3,4,5,6-tetrahydro-*s*-triazin, 4) lieferte.



Da uns die Bildung von 4 interessierte, haben wir versucht, den Mechanismus dieser ungewöhnlichen oxydativen Abbaureaktion durch entsprechende  $^{14}C$ -Markierung

<sup>\*)</sup> Alexander von Humboldt-Stipendiat 1967/68.

<sup>\*\*)</sup> Neue Anschrift: Fachbereich Chemie, Universität Konstanz.

1) XLVI. Mitteil.: W. Pfeleiderer und R. Mengel, Chem. Ber. 104, 2313 (1971).

2) H. Wieland und R. Purmann, Liebigs Ann. Chem. 539, 179 (1939).

aufzuklären. Es erschien uns hierfür sinnvoll, [8a-<sup>14</sup>C]Xanthopterin in die Reaktion einzusetzen, da dem 8a-C-Atom eine gewisse Schlüsselfunktion im Molekül zukommt und sein Verbleiben bzw. Fehlen in **4** wertvolle Rückschlüsse auf den Umwandlungsmechanismus zuläßt. Die Darstellung von [8a-<sup>14</sup>C]-**1**<sup>3)</sup> erfolgte ausgehend von Na<sup>14</sup>CN in bekannter Weise über Cyanessigsäure-methylester<sup>4)</sup>, dessen Überführung in einer Traube-Synthese in 2,4,5-Triamino-6-oxo-1,6-dihydro-pyrimidin<sup>5)</sup> und nachfolgender saurer Kondensation mit Glyoxylsäure-äthylester<sup>6)</sup>. Die Reinigung von **1** wurde durch Kristallisation über das Hydrochlorid und dessen anschließende Hydrolyse zum Xanthopterin-monohydrat (**1**) vorgenommen. Behandlung dieses Produktes mit Perhydrol in Eisessig führte zum „Xanthopterin-peroxid“ (**2**), dessen Analyse nach Trocknen über NaOH i. Vak. bei 20° auf C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> stimmte. In wäßriger Lösung setzt das Produkt aus Kaliumjodid Jod in Freiheit, so daß durch Titration mit Natriumthiosulfat die Äquivalenz von 1 Mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pro Mol Xanthopterin leicht nachgewiesen werden kann. Beim Kochen in Wasser wird das Peroxid nahezu quantitativ in Xanthopterin-monohydrat (**1**) übergeführt. Da **1** und **2** ferner in kalter Trifluoressigsäure und warmem Hexamethylphosphorsäuretriamid übereinstimmende NMR-Spektren liefern, bei denen das entscheidende 7-H-Signal bei δ 8.75 bzw. 8.2 erscheint, ist gezeigt, daß das H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in „Xanthopterin-peroxid“ nur sehr locker gebunden sein kann und aller Wahrscheinlichkeit nach den Platz des „Kristallwassers“ im Monohydrat **1** eingenommen hat.

Weitere strukturelle Möglichkeiten wären ein Monohydrat eines Xanthopterin-N-oxids oder das durch Addition von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> an die zentrale C=C-Doppelbindung gebildete und von *Wieland* und *Purmann*<sup>2)</sup> diskutierte „Xanthopterin-9,10-glykol“. Da sie den chemischen und den physikalischen Eigenschaften des „Xanthopterin-peroxids“ jedoch nicht gerecht werden, erscheint die Formulierung gemäß **2** am sinnvollsten.

Die aus der Umsetzung von [8a-<sup>14</sup>C]-„Xanthopterin-peroxid“ mit Perhydrol bei 100° erhaltene Melanurensäure zeigt eine spezifische Aktivität, die dem Verbleib des <sup>14</sup>C im Ausgangsprodukt entspricht, womit erwiesen ist, daß das 8a-C-Atom von **1** beim oxydativen Abbau im Molekülverband verbleibt und damit als C-6 bzw. C-4 in **4** auftritt. Dieser Befund macht folgenden Mechanismus wahrscheinlich:

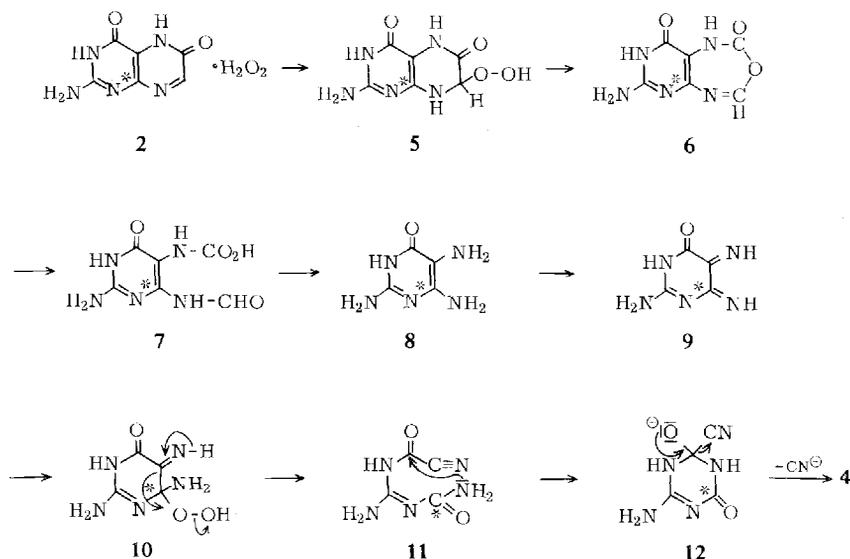
Zunächst addiert sich das H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> an die C=N-Doppelbindung des Pyrazinringes zu **5**, dann erfolgt Ringerweiterung im Sinne einer Baeyer-Villiger-Reaktion zum 7-Ringlacton **6**. Hydrolyse und Decarboxylierung führt über **7** zum 2,4,5-Triamino-6-oxo-1,6-dihydro-pyrimidin (**8**), welches zunächst zu **9** dehydriert wird, so daß unter erneuter H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Addition (**10**), Umlagerung (**11**) und Cyanid-Eliminierung Stabilisierung zu **4** eintreten kann. Gestützt wird diese Reaktionsfolge ferner durch die Tatsache, daß **8** mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer heftigen exothermen Reaktion und hoher Ausbeute **4** liefert.

<sup>3)</sup> F. Korte und H. Barkemeyer, Chem. Ber. **89**, 2400 (1956).

<sup>4)</sup> E. L. Bennett, J. Amer. chem. Soc. **74**, 2420 (1952); W. A. Noyes, ebenda **26**, 1545 (1904).

<sup>5)</sup> C. K. Cain, M. F. Mallette und E. C. Taylor, J. Amer. chem. Soc. **68**, 1996 (1946).

<sup>6)</sup> F. Korte, Chem. Ber. **87**, 1062 (1954).



Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die finanzielle Förderung dieser Arbeit und der Alexander von Humboldt-Stiftung für die Gewährung eines Stipendiums. Herrn Doz. Dr. O. Müller und Mitarbb. vom Isotopenlaboratorium der Chemischen Institute der Universität Stuttgart gilt unser Dank für wertvolle Hilfe und Unterstützung bei den Radioexperimenten.

## Beschreibung der Versuche

Die Prüfung der synthetischen Verbindungen auf Reinheit wurde papierchromatographisch auf Schleicher und Schüll-Papier 2043b Mgl in den Systemen

a) 3proz. Ammoniumchlorid, b) n-Butanol/5n Essigsäure (2:1) und c) n-Propanol/1proz. Ammoniak (2:1) vorgenommen.

Zur Auswertung der  $^{14}\text{C}$ -Experimente wurde ein Flüssigkeitsszintillationszähler der Firma Packard, Tri-Carb-Modell 3003, verwandt.

[3- $^{14}\text{C}$ ]Cyanessigsäure-methylester: Aus 10.85 g Chloressigsäure-methylester mit 5.0 g Natriumcyanid (enthält 500  $\mu\text{C}$   $\text{Na}^{14}\text{CN}$ ) analog der Vorschrift von Noyes<sup>4)</sup> erhält man 4.79 g farblose Flüssigkeit vom Sdp.<sub>20</sub> 100–104°.

2.4.5-Triamino-6-oxo-1.6-dihydro-[4- $^{14}\text{C}$ ]pyrimidin-sulfat (8 ·  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )<sup>5)</sup>: 6.0 g Guanidin-carbonat und 6.6 g Cyanessigsäure-methylester, welcher 1.0 g des vorstehenden  $^{14}\text{C}$ -Esters enthält, werden in 82.0 ccm 1.03n Natriumäthylat-Lösung durch 3 Stdn. Kochen zu 2.4-Diamino-6-oxo-1.6-dihydro-[4- $^{14}\text{C}$ ]pyrimidin kondensiert. Nitrosierung und Reduktion liefert zunächst 2.4.5-Triamino-6-oxo-1.6-dihydro-[4- $^{14}\text{C}$ ]pyrimidin-hydrogensulfid (12.3 g), welches durch Kochen in 80 ccm heißer 7n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in das Sulfat übergeführt wird. Man erhält 7.3 g (42%, bezogen auf Guanidin-carbonat) farblose Kristalle vom Schmp. > 320°, spezif. Akt.  $3.38 \cdot 10^{-3} \mu\text{C}/\text{mg}$ .

$\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_5\text{O} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (257.2) Ber. C 18.68 H 4.31 N 27.24

Gef. C 18.85 H 4.20 N 27.33

[8a-<sup>14</sup>C]Xanthopterin ([8a-<sup>14</sup>C]-1)<sup>3,6)</sup>: Aus 1.2 g vorstehender Verbindung mit 0.75 g Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal nach Korte<sup>6)</sup>. Das Rohprodukt wird aus 6*n* HCl umkristallisiert und ergibt 0.56 g (56%) rotbraune Kristalle an [8a-<sup>14</sup>C]Xanthopterin-hydrochlorid<sup>7)</sup> vom Schmp. >350° (Lit.<sup>8)</sup>: >320°).

C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]Cl (215.6) Ber. C 33.43 H 2.80 N 32.47 Gef. C 33.36 H 3.17 N 32.20

Das Hydrochlorid wird durch Kochen in Wasser und Einstellen von pH 4.8 in das Monohydrat übergeführt. Nach Trocknen über NaOH i.Vak. 0.49 g gelbes Kristallpulver vom Schmp. >350° (Lit.<sup>9)</sup>: >360°).

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (197.2) Ber. C 36.55 H 3.58 N 35.52 Gef. C 36.59 H 3.47 N 35.90

[8a-<sup>14</sup>C]-„Xanthopterin-peroxid“ (2): 0.456 g [8a-<sup>14</sup>C]Xanthopterin-monohydrat ([8a-<sup>14</sup>C]-1) werden zu einem Gemisch von 11.25 ccm Eisessig und 2.25 ccm 30proz. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gegeben. Man schüttelt die Suspension 30 Min. bei Raumtemp. und trägt durch Zerdrücken des Festkörpers mit einem Glasstab Sorge, daß kein Zusammenklumpen erfolgt. Es wird dann scharf abgesaugt, zunächst mit Eisessig, dann mit Äther gewaschen und anschließend im Vakuumexsiccator über NaOH getrocknet. Ausb. 0.389 g (78%) orangefarbenes Kristallpulver vom Schmp. >350°.

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (213.2) Ber. C 33.81 H 3.31 N 32.86 Gef. C 33.68 H 3.47 N 33.03

Verkochen von „Xanthopterin-peroxid“: 0.020 g 2 werden in 10 ccm Wasser 15 Min. unter Rückfluß gekocht. Man läßt abkühlen, saugt den gelben Niederschlag ab und trocknet bei 20°/20 Torr. Ausb. 0.017 g (92%) vom Schmp. >350°. Das Produkt erwies sich chromatographisch und durch das IR-Spektrum als mit authent. Xanthopterin identisch.

[6-<sup>14</sup>C]Melanurensäure ([6-<sup>14</sup>C]-4)

a) 0.484 g [8a-<sup>14</sup>C]-„Xanthopterin-peroxid“ (2) werden in 7.8 ccm 30proz. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 60 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Man saugt vom Leuko<sup>10)</sup>pterin (3) ab, engt das Filtrat vorsichtig ein und behandelt den Rückstand mit wenig Wasser. Nach Absaugen wird das Rohprodukt (0.093 g) zur Reinigung aus konz. Salzsäure umkristallisiert und liefert nach Hydrolyse des 4-Hydrochlorids mit Wasser und Trocknen bei 100°/35 Torr 0.045 g farbloses Kristallpulver vom Schmp. >350° und der spezif. Akt. 5.65·10<sup>-3</sup> μC/mg.

Die Identität mit einem nach Jäger<sup>10)</sup> synthetisierten authentischen Material wurde auf chromatographischem Wege und im UV-Spektrum sichergestellt.

b) 0.5 g 2.4.5-Triamino-6-oxo-1.6-dihydro-pyrimidin (8)<sup>11)</sup> werden unter Schütteln mit 10 ccm Perhydrol übergossen, wobei Auflösung und zunächst Verfärbung nach Braun eintritt. Das Reaktionsgemisch erwärmt sich stark, und nach ca. 5 Min. beginnt unter Aufhellung die Abscheidung eines gelblichen Niederschlages (0.37 g). Durch Verdünnen des Filtrats mit Wasser kann eine zweite Fraktion gewonnen werden (0.045 g). Zur Reinigung wird aus sehr viel Wasser mit Aktivkohle umkristallisiert: 0.34 g (75%) farbloses Kristallpulver vom Schmp. >350°. Das Massenspektrum zeigt den Molekülpeak bei 128. Das Produkt ist chromatographisch mit authent. Material identisch.

<sup>7)</sup> A. Albert und H. C. S. Wood, J. appl. Chem. 2, 591 (1952).

<sup>8)</sup> A. G. Anderson und J. A. Nelson, J. Amer. chem. Soc. 71, 3837 (1949).

<sup>9)</sup> H. Wieland und C. Schöpf, Ber. dtsh. chem. Ges. 58, 2178 (1925).

<sup>10)</sup> J. H. Jäger, Ber. dtsh. chem. Ges. 9, 1554 (1876).

<sup>11)</sup> W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 90, 2272 (1957).