

116. Pteridine

Teil LXXXI¹⁾

Mechanismus der Photooxidation von 5,6-Dihydro-1,3-dimethyl-6-thioxopterin-2,4(1*H*,3*H*)-dion

von Armin Heckel und Wolfgang Pfeleiderer*

Fakultät für Chemie der Universität Konstanz, Universitätsstrasse 10, D-7750 Konstanz

(12. V. 86)

Mechanism of the Photooxidation of 5,6-Dihydro-1,3-dimethyl-6-thioxopterin-2,4(1*H*,3*H*)-dione

The mechanism of the photooxidation of 5,6-dihydro-1,3-dimethyl-6-thioxopterin-2,4(1*H*,3*H*)-dione (**9**) has been investigated in dependence of the pH. Photooxidation of the anion species in weak alkaline solution takes place by singlet oxygen as well as the superoxide radical anion forming 1,2,3,4-tetrahydro-1,3-dimethyl-2,4-dioxopterin-6-sulfinate (**5**) as the first detectable reaction product. In acidic medium, a more complex photooxidation process is observed leading, in a radical-chain mechanism, to 6,6'-dithio[1,3-dimethylpteridine-2,4(1*H*,3*H*)-dione] (**6**).

1. Einleitung. – Wir haben berichtet [1], dass bei der Photooxidation von heterocyclischen Thioamiden in saurer bis neutraler Lösung als primäre Oxidationsprodukte Disulfide und in alkalischer bis neutraler Lösung in erster Stufe Sulfinsäuren entstehen. Es interessierte nun, ob die Mechanismen und damit die Zwischenstufen eine spezifische pH-Abhängigkeit zeigen. Dieses Problem wurde am Beispiel des 1,3-Dimethyl-6-thio-5,6-dihydro-1,3-dimethyl-6-thioxopterin (**1**·H≡**9**) ausführlich untersucht.

2. Resultate und Diskussion. – Kinetische und thermodynamische Überlegungen ergaben, dass eine Oxidationsreaktion der Thiolactame sowohl mit Grundzustand-O₂, mit Singulett-O₂ oder mit Superoxid möglich wäre. Der p*K*_a-Wert von 1,3-Dimethyl-6-thio-5,6-dihydro-1,3-dimethyl-6-thioxopterin beträgt im Grundzustand 3,58, woraus sich mit Hilfe des 'Förster-Cyclus' [2] über die Absorptionsmaxima des Neutralkmoleküls und des Anions der p*K*_a-Wert des angeregten Zustandes zu 7,4 berechnet. Dieser Wert gilt für den angeregten Singulett-Zustand, und es darf davon ausgegangen werden, dass der p*K*_a-Wert des Triplett-Zustandes von **1** zwischen dem des Grundzustandes und dem des angeregten Singulett-Zustandes liegt.

Um sicherzustellen, dass bei den Untersuchungen des Photooxidationsmechanismus des Anions **1** im Grund- und im angeregten Zustand das deprotonierte Molekül vorliegt, wurden die Versuche in Puffer von pH 9 durchgeführt.

Bei aerober Belichtung von **1** in diesem Puffer verschwand das Ausgangsprodukt rasch und 1,3-Dimethyl-6-thio-5,6-dihydro-1,3-dimethyl-6-thioxopterin-6-sulfinat (**5**) entstand. Da im Dunkeln keine Verände-

¹⁾ Teil LXXX: [1].

nung stattfand und auch eine mit Ar gespülte Lösung bei Bestrahlung keine Reaktion zeigte, erfordert die beobachtete Photoreaktion also gleichzeitig Sauerstoff und Licht. Es stellte sich die Frage, ob an der Reaktion Sauerstoff als Radikal, Singulett-O₂ oder Superoxid teilnimmt. Hierzu wurde zunächst zur Bestimmung der Wellenlängenabhängigkeit der Photooxidation eine Reihe von Glasfiltern vorgeschaltet und dann in der zu belichtenden Probe die Abnahme der Edukt-Konzentration mit der Zeit UV-spektroskopisch gemessen. Es zeigte sich, dass die Reaktion dann schnell verlief, wenn Licht um 420 nm eingestrahlt wurde, was der Singulett-Anregung des 1,3-Dimethylumazin-6-thiolats (**1**) entspricht.

Nimmt man an, dass die Photooxygenierung von **1** in Puffer von pH 9 über Radikale verläuft, so sollte diese Reaktion langsamer werden, wenn die Radikale abgefangen werden. Wir verwendeten 2,6-Dimethylphenol als Radikalfänger, konnten jedoch keine Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit im Vergleich zur ursprünglichen Reaktionslösung feststellen. Eine Photooxidation mit Singulett-O₂ sollte von der Singulett-O₂-Konzentration abhängig sein. Diese kann durch Zugabe eines Sensibilisators vergrössert oder aber durch Löschen und Abfangreaktionen vermindert werden. Ferner kann die Lebenszeit des Singulett-O₂ durch geeignete Wahl des Lösungsmittels beeinflusst werden.

Das 1,3-Dimethylumazin-6-thiolat (**1**) reagiert offenbar bevorzugt mit Singulett-O₂, denn die Reaktion lief schneller bei Zusatz eines Sensibilisators wie Methyleneblau, das eine Beschleunigung um den Faktor 50 bedingt. Bereits nach 15 s wurde ein Umsatz erzielt,

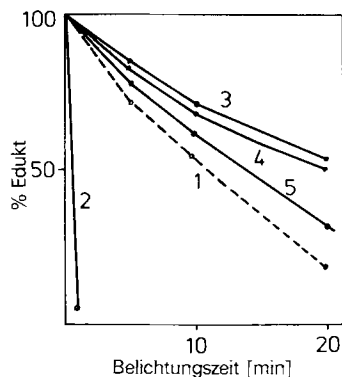


Fig. 1. Sensibilisierungs- und Löschungsexperimente von **1**. Kurve 1: keine Zusätze; Kurve 2: $+ 2 \times 10^{-5}$ mol/l Methyleneblau; Kurve 3: $+ 0,1$ mol Et₃N; Kurve 4: $+ 10^{-3}$ mol NaN₃; Kurve 5: $+ 5 \times 10^{-4}$ mol DABCO. Anal. Wellenlänge 418 nm; Abnahme der Edukt-Extinktion.

der ohne Zusätze erst nach 15 min erreicht wurde (Fig. 1). Zugabe von Substanzen, die Singulett-O₂ deaktivieren oder mit ihm reagieren können, sollte zu einer Verlangsamung der Reaktion führen. Setzt man der Lösung von **1** in Puffer von pH 9 Singulett-O₂ Quencher [3] wie Et₃N, NaN₃ oder 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) zu, so wurde die Photoreaktion langsamer (Fig. 1, Kurve 3, 4 und 5).

Schliesslich ist es auch möglich, Singulett-O₂-Reaktionen durch Lösungsmittelvariation über die Lebenszeit des Singulett-O₂ zu beeinflussen [4]. Es wurde hierzu die Stamm-lösung von **1** in Puffer pH 9 mit der gleichen Menge eines Lösungsmittels wie H₂O, D₂O oder MeOH verdünnt und dann belichtet. Die Photoreaktion wurde dabei beim Über-

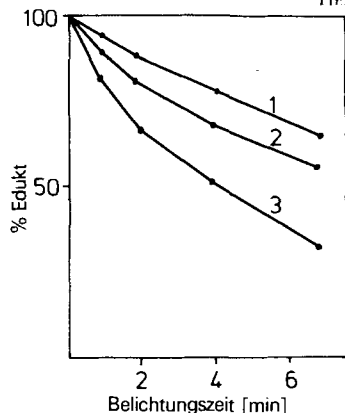


Fig. 2. Lösungsmiteleinfluss auf die Photooxidation von 1. Kurve 1: Puffer pH 9; Kurve 2: 50% D₂O; Kurve 3: 50% MeOH. Anal. Wellenlänge 418 nm.

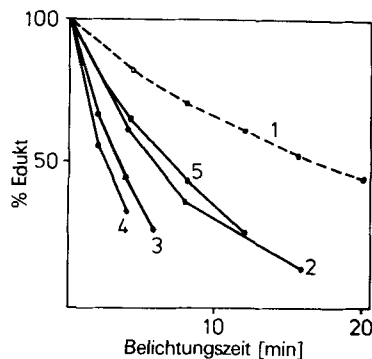
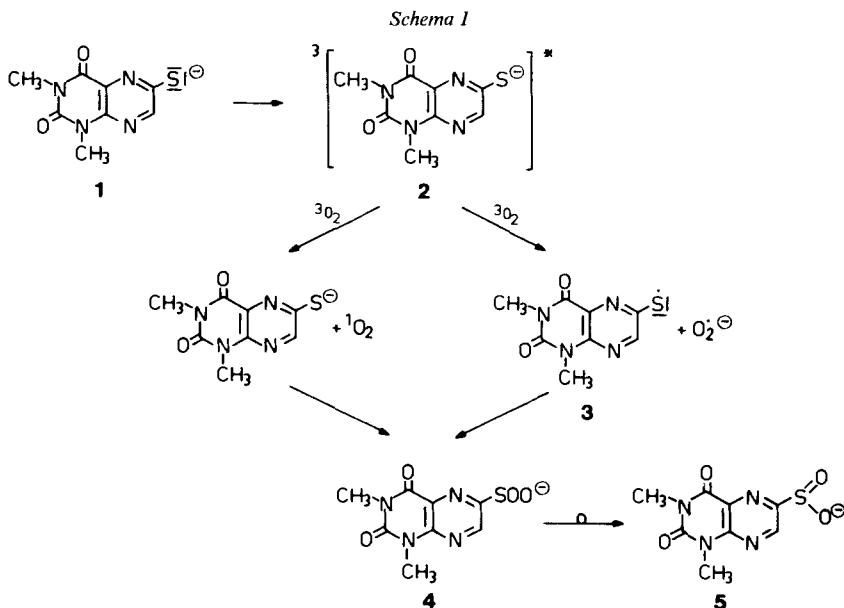


Fig. 3. Belichtung von 1 in Puffer von pH 9 in Gegenwart steigender Mengen des Sensibilisators Anthracen-9,10-dicarbonitril. Kurve 1: kein Zusatz; Kurve 2: 1×10^{-2} mol/l Sensibilisator; Kurve 3: 2×10^{-2} mol/l; Kurve 4: 3×10^{-2} mol/l; Kurve 5: 1×10^{-2} mol/l + NaN₃. Anal. Wellenlänge 418 nm; Abnahme der Edukt-Extinktion.

gang von H₂O zu D₂O oder MeOH deutlich beschleunigt, so dass offensichtlich Singulett-O₂ an der Reaktion beteiligt ist (Fig. 2).

Ein Hinweis über die mögliche Beteiligung des Superoxid-Ions am Oxidationsmechanismus wurde zunächst durch Anthracen-9,10-dicarbonitril, einen Sensibilisator für die Superoxid-Reaktion [5], erbracht. Belichtung von 1,3-Dimethylumazin-6-thiolat (1) in Anwesenheit von unterschiedlichen Mengen dieses Sensibilisators liess nämlich mit zunehmender Konzentration eine Reaktionsbeschleunigung erkennen (Fig. 3). Wurde ne-



ben Anthracen-9,10-dicarbonitril zusätzlich NaN_3 zugegeben (*Kurve 5*), so wurde die Reaktion nicht merklich langsamer, was in der Weise gedeutet werden kann, dass bei dieser sensibilisierten Reaktion Singulett- O_2 wohl keine Rolle spielt.

Da diese Experimente jedoch nur zeigen, dass eine Reaktion der 1,3-Dimethylumazin-6-thio-Radikale mit Superoxid kinetisch erlaubt ist, musste für dessen Existenz noch ein eindeutiger Nachweis geführt werden. Die Methode der Wahl hierfür besteht in der Verwendung von Nitrotetrazoliumblau, das bei Reduktion durch Superoxid in ein blaues, leicht nachweisbares Diformazan übergeht [6] und sich bei Belichtung von **1** auch nach kurzer Zeit an seiner intensiven blauen Farbe zu erkennen gab.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass bei der Photooxidation des 1,3-Dimethylumazin-6-thiolats (**1**) sowohl Singulett- O_2 als auch Superoxid eine Rolle spielen und der folgende Mechanismus wahrscheinlich ist (*Schema 1*): Das 1,3-Dimethylumazin-6-thiolat (**1**) absorbiert Licht und wird in den ersten angeregten Zustand gehoben, aus dem heraus dann bedingt durch den Schweratom-Effekt des S-Atoms, eine Spin-Umkehr, ein 'intersystem crossing', erfolgt und das Molekül so in den angeregten Triplettzustand **2** gelangt. Für die weitere Reaktion des Triplettzustandes von **1** sind dann drei Möglichkeiten zu diskutieren: *a*) Einmal kann die überschüssige Energie von **2** in Wärme umgewandelt werden. *b*) Die zweite Möglichkeit ist die Bildung des Singulett- O_2 durch Energie-Transfer auf Grundzustand- O_2 mit nachfolgendem elektrophilem Angriff dieser Spezies auf **1**. Das Produkt dieser Umsetzung ist vermutlich das Peroxosulfonat **4**, das sich schnell zum entsprechenden Sulfinat **5** umlagert. *c*) Der dritte Weg schliesst die Bildung des Superoxid-Ions aus dem angeregten Lumazinthiolat **2** durch Elektron-Transfer in sich ein. Das so gebildete Superoxid-Anion reagiert dann mit dem Radikal **3**, wobei vermutlich zunächst wieder das Peroxosulfonat **4** gebildet wird, gefolgt von der Umlagerung zu **5**.

Die Belichtung des Neutramoleküls 1,3-Dimethyl-6-thioxo-5,6-dihydrolumazin (**9**) bei pH 1 in Gegenwart von Luft- O_2 führte zum Bis(1,3-dimehtyllumazin-6-yl)-disulfid (**6**). Für diese Reaktion sind beide Komponenten (Licht und O_2) erforderlich, denn

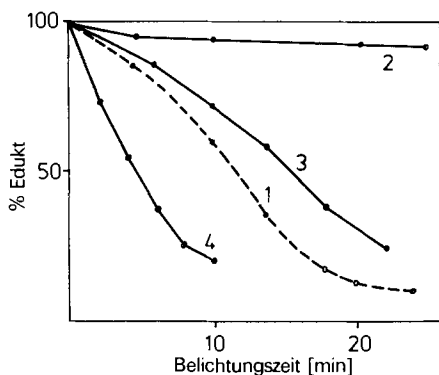


Fig. 4. Kinetik der Photooxidation von **9** bei pH 1. *Kurve 1*: Licht > 350 nm; *Kurve 2*: Licht > 420 nm; *Kurve 3*: Filterkombination für Licht 360 nm; *Kurve 4*: ausgebleichte Lösung + **9**. Anal. Wellenlänge 453 nm.

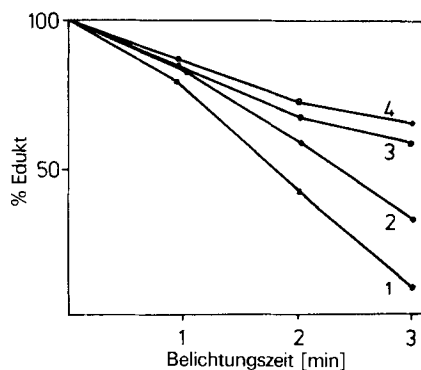


Fig. 5. Belichtung von 1,3-Dimethyl-6-thioxo-5,6-dihydrolumazin (**9**) bei pH 1 unter Zusatz des Radikalfängers 2,6-Di(tert-butyl)phenol. *Kurve 1*: ohne Zusatz; *Kurve 2*: $+ 5 \times 10^{-2}$ mol Radikalfänger/l; *Kurve 3*: $+ 10^{-1}$ mol/l; *Kurve 4*: $+ 2 \times 10^{-1}$ mol/l. Anal. Wellenlänge 453 nm; Abnahme der Edukt-Extinktion.

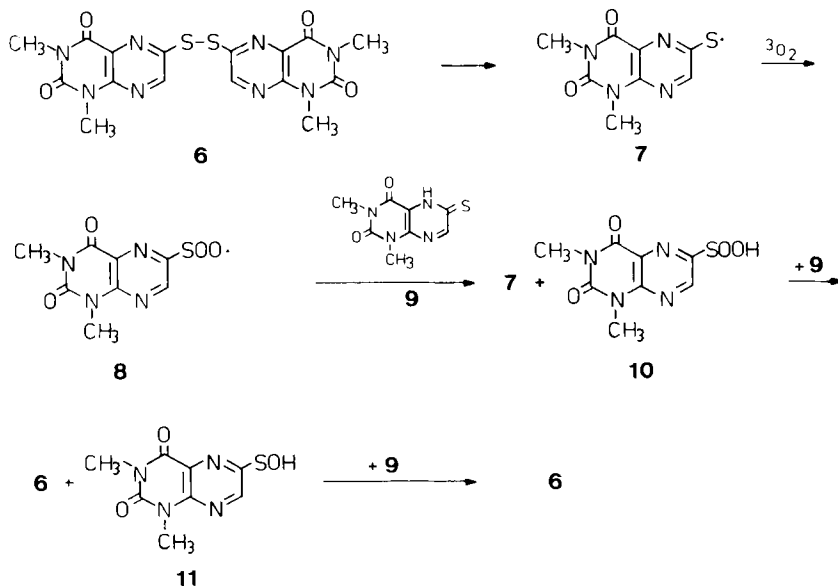
Ausschluss von O₂ einerseits und fehlendes Licht andererseits bewirkte keinerlei Veränderung des Edukts. Die Verfolgung der Konzentrationsabnahme der aeroben Photooxidation von **9** bei pH 1 (*Kurve 1, Fig. 4*) führte zu einer eigentümlichen sigmoiden Kurve wie ihn normalerweise selbstkatalysierte Reaktionen aufweisen. Statt eine stetig abnehmende Konzentration zu finden, stellte man zu Beginn der Reaktion eine langsame, dann eine schnellere Abnahme des Eduktes fest. Am Ende der Belichtung zeigte sich dann wieder eine kleinere Reaktionsgeschwindigkeit. Aus der Bestrahlung von **9** durch verschiedene Glasfilter war zu erkennen, dass die Reaktionsgeschwindigkeit dann am grössten war, wenn mit Licht der Wellenlänge 360 nm gearbeitet wurde, was gerade dem Absorptionsmaximum des Disulfides **6** entspricht. Licht der Wellenlänge > 420 nm verlangsamte die Reaktion ausserordentlich (*Fig. 4, Kurve 2*), wogegen die Anwendung einer Filterkombination zur Selektion der Wellenlänge 360 nm wieder das sigmoide Verhalten erkennen liess (*Kurve 3*). Bleichte man schliesslich die Ausgangslösung durch die Disulfid-Bildung zunächst aus und setzte dann wieder die gleiche Menge **9** wie zu Beginn des Versuches zu, so verschwand das Edukt bei fortgesetzter Belichtung viel schneller als im ursprünglichen Experiment (*Kurve 4*). Man darf hieraus schliessen, dass das Bis(1,3-dimethylumazin-6-yl)-disulfid (**6**), das bei der Photooxidation entstanden ist, die eigentlich aktive, lichtabsorbierende Spezies dieser Umsetzung darstellt und damit seine Bildung in einer Autokatalyse selbst beschleunigt.

Danach wurde mit Radikalfängern die Reaktionsgeschwindigkeit sukzessive vermindert, da sie mit den möglicherweise gebildeten Zwischenprodukten der Photodimerisierung des 1,3-Dimethyl-6-thioxo-5,6-dihydrolumazins (**9**) in Reaktion treten können. Wenige Tropfen einer 1N 2,6-Di(*tert*-butyl)phenol-Lösung [7] zeigten einen ersten Effekt (*Fig. 5, Kurve 2*), der durch Zugabe steigender Mengen an Phenol verstärkt wurde (*Kurve 3 und 4*) und damit auf die Beteiligung von Radikalen schliessen lässt.

Als weitere Prüfung auf eine mögliche Beteiligung von Singulett-O₂ an der Photoreaktion von **9** bei pH 1 wurde in Anwesenheit eines Sensibilisators belichtet. Es zeigte sich bei diesem Versuch eine gewisse Beschleunigung der Reaktion, jedoch reicht dieser Effekt nicht aus, um auf einen Singulett-O₂-Mechanismus zu schliessen. Singulett-O₂ kann bei der oxidativen Disulfid-Bildung praktisch keine Rolle spielen, da bei Zugabe von 2,3-Dimethylbuten (0,02 mol/l) als Singulett-O₂-Fänger die Geschwindigkeit der Reaktion bei Belichtung fast konstant blieb und sich auch nicht in Gegenwart der Singulett-O₂-Quencher NaN₃ (5 × 10⁻² mol/l) oder Diazabicyclooctan (10⁻³ mol/l) wesentlich ändert. Ferner kann bei dieser Reaktion auch das Auftreten von Superoxid ausgeschlossen werden, da die Reaktionsgeschwindigkeit bei Anwesenheit von Anthracen-9,10-dicarbonitril als Sensibilisator keine Veränderung erfuhr.

Fasst man die verschiedenen Experimente zusammen und beachtet dabei besonders die Wellenlänge-Abhängigkeit der Reaktion, so zeigt sich, dass hier eine Radikal-Reaktion abläuft und dass dem Bis(1,3-dimethylumazin-6-yl)-disulfid (**6**) als der effektiv absorbierenden Verbindung eine zentrale Rolle zukommt. Ein Mechanismus, der alle Experimente befriedigend erklären kann, ist in *Schema 2* wiedergegeben. Im ersten Schritt wird das Disulfid **6** homolytisch gespalten, und dann reagieren die gebildeten Radikale **7** mit Triplett-O₂ zum Peroxosulfonyloxy-Radikal **8**. Dieses wiederum abstrahiert von nicht umgesetztem **9** ein H-Atom, so dass sich neben der 1,3-Dimethylumazin-6-peroxosulfensäure (**10**) als zweites Reaktionsprodukt wieder das Radikal **7** bildet, das die Reaktionskette fortsetzen kann. Die Peroxosulfensäure **10** kann mit **9** in zwei Rich-

Schema 2

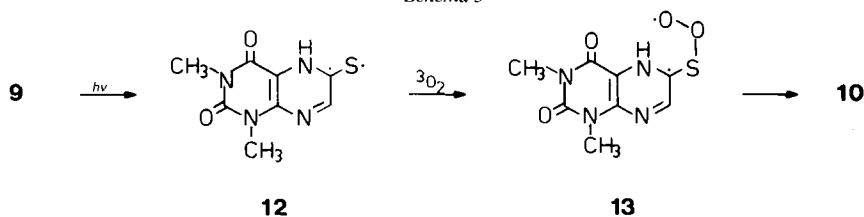


tungen weiter reagieren, wobei einmal unter Abspaltung von H_2O_2 wieder das Disulfid **6** entstehen und zum andern Komproportionierung zu 2 mol 1,3-Dimethylumazin-6-sulfensäure (**11**) eintreten kann. Letztere Verbindung reagiert dann mit **9** unter Kondensation erneut zum Disulfid **6** und H_2O .

Mit diesem Modell lässt sich die Kinetik der Dimerisierungsreaktion recht gut erklären, da durch die anfänglich geringe Menge an Disulfid-Molekülen zunächst die Reaktion recht langsam verläuft und erst mit steigender Konzentration dieser Spezies auch eine Zunahme der Geschwindigkeit der Umsetzung eintritt, die schliesslich nach vollständiger Bildung von **6** zum Stillstand kommt.

Die offene Frage der Primärbildung des Disulfids **6** kann in der Weise beantwortet werden, dass das 1,3-Dimethyl-6-thioxo-5,6-dihydrolumazin (**9**) Licht absorbiert und über den angeregten Singulett-Zustand zunächst in den Triplett-Zustand **12** gelangt, der mit Triplett- O_2 zum Peroxosulfonyloxyl-Diradikal **13** weiter reagieren kann (Schema 3). Diese Zwischenstufe abstrahiert dann intramolekular ein H-Atom, so dass die 1,3-Dimethylumazin-6-peroxosulfensäure (**10**) entsteht, die nach dem oben dargelegten Mechanismus das Bis(1,3-dimethylumazin-6-yl)-disulfid (**6**) bildet und so die Reaktionskette startet.

Schema 3



Experimenteller Teil

Allgemeines. UV-Spektren und spektrophotometrische Messungen: *Uvikon 820* der Fa. *Kontron*. Bestrahlungen: umgebauter Diaprojektor der Fa. *Zeiss*, Modell *Perkeo Automat S 250*; 250-Watt-Halogenlampe. Sämtliche Untersuchungen erfolgten in 1-cm-Quarzküvetten mit 1 mg Substanz/100 ml Lösungsmittel. Belichtungen mit Licht > 350 nm wurden durch ein einfaches Glasfilter geregelt, während die spezifische Bestrahlung mit 360 nm Licht durch die Filterkombination *UG 11* und *WG 360* bewerkstelligt wurde. Die Charakterisierung der Produkte erfolgte durch Spektrenvergleiche mit authentischen Materialien [1].

Wir danken Herrn Professor *U. Steiner*, Fakultät für Chemie der Universität Konstanz, für interessante Diskussionen und die Durchführung einiger Experimente zur Wellenlänge-Abhängigkeit. Dem *Fonds der Chemischen Industrie* gilt unser Dank für die Gewährung eines Doktorandenstipendiums sowie für finanzielle Hilfe.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Teil LXXX: A. Heckel, W. Pfeleiderer, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 708.
- [2] J. F. Ireland, P. A. H. Wyatt, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1976**, *12*, 131.
- [3] D. Bellus, *Adv. Photochem.* **1979**, *11*, 105.
- [4] N. J. Turro, 'Modern Molecular Photochemistry', The Benjamin Cummings Publishing Co., Menlo Park, 1978.
- [5] J. Eriksen, C. S. Foote, T. L. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6455.
- [6] C. Beauchamp, I. Fridovich, *Anal. Biochem.* **1971**, *44*, 276.
- [7] C. S. Foote, S. Wexler, W. Ando, *Tetrahedron Lett.* **1965**, 4111.