

Diss. ETH Nr. 9968

# **Über strukturelle Zusammenhänge zwischen Blausäure und natürlichen Purinen und Pteridinen**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels  
DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von  
Klemens Eduard Koch  
Chim. dipl. der Université de Lausanne  
geboren am 19. Mai 1964  
von Uezwil AG

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. A. Eschenmoser, Referent  
Prof. Dr. C. Ganter, Korreferent

Zürich 1992

Meinen Eltern,  
Luzia,  
Felizia und Julian  
in Dankbarkeit gewidmet

Meinem verehrten Lehrer

**Herrn Prof. Dr. Albert Eschenmoser**

unter dessen Leitung ich diese interessante Arbeit ausführte, danke ich für den grossen Freiraum, die anregenden Diskussionen und das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern in der Zeit, da diese Arbeit entstand - insbesondere Christian Strupp, Yanling Song und Alex Alanine im Labor E 37 - möchte ich für die freundschaftliche Atmosphäre und Zusammenarbeit danken.

Peter Lohse danke ich für die gute Labornachbarschaft und die gemeinsame Doktorfeier.

Frau Dr. D. Felix möchte ich für die Lösung von vielerlei Problemen, insbesondere der Unterstützung bei der Laborräumung aber auch für die wertvollen Teepausen danken.

Meinem Laborerben Blake Peterson von der Gruppe Diederich danke ich für die Korrektur des Summary.

Herr Dr. J. Schreiber † stellte mir erprobte HPLC-Analysemethoden zur Verfügung, ohne die vieles nicht möglich gewesen wäre. Dafür gebührt im ein herzlicher Dank.

Herrn Dr. E. Zass danke ich für die Literaturrecherchen und Frau H. Zass-Gächter für vielfältige Unterstützung.

Herrn Dr. B. Schweizer, Gruppe für chemische Kristallographie, ETH Zürich, danke ich für die Röntgenstrukturanalyse.

Herrn Prof. Dr. C. Ganter danke ich für die Übernahme des Korreferates und die vielen Anregungen.

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und vom Stipendienfonds der Basler Chemischen Industrie unterstützt.

Dass diese Quellen immer etwa gleichmässig flossen, dafür danke ich Frau J. Bovet.

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>1</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>5</b>
<b>Summary</b>	<b>9</b>

## **ALLGEMEINER TEIL**

<b>1. Einleitung</b>	<b>13</b>
1.1. Zugelassene Ausgangsstoffe und Bedingungen	17
1.2. Problemstellung	20
1.2.1. Von den Aza- zu den natürlichen Formen	20
1.2.2. Riboflavin, F <sub>420</sub> und Folsäure	23
<b>2. Blausäureoligomere und Dicyan: Literaturübersicht</b>	<b>29</b>
2.1. Die Oligomerisation von Blausäure	29
2.2. Dicyan: Seine Hydrolyse und Ammonolyse	31
<b>3. Die aldehydkatalysierte Hydratisierung von Blausäureoligomeren</b>	<b>33</b>
3.1. Literaturübersicht zur aldehyd- und ketonkatalysierten Hydratisierung von $\alpha$ - und $\beta$ -Aminonitrilen	33
3.2. Die aldehydkatalysierte Hydratisierung des Blausäuretrimeren Aminomalonsäuredinitril	36
3.3. Die acetaldehydkatalysierte Hydratisierung des Blausäuretetrameren Diaminomaleinsäuredinitril	49

3.4.	Die formaldehydkatalysierte Hydratisierung des Blausäuretetrameren 5-Aminoimidazol- 4-carbonitril	59
4.	<b>Aminopyrimidine</b>	<b>63</b>
5.	<b>Aminopurine und ihre Hydrolyse zu Xanthin</b>	<b>71</b>
6.	<b>Versuche zur Bildung von 6-Ribitylamino- 5-aminouracil</b>	<b>77</b>
7.	<b>Folsäure</b>	<b>89</b>
8.	<b>Versuche zur Bildung des Chromophorsystems von F<sub>420</sub></b>	<b>105</b>
9.	<b>Schlussbemerkungen und Ausblick</b>	<b>109</b>

## **EXPERIMENTELLER TEIL**

	<b>Allgemeine Bemerkungen</b>	<b>117</b>
1.	<b>Blausäuretrimer: Aminomalonsäuredinitril</b>	<b>125</b>
1.1.	Aminomalonsäuredinitril	125
1.2.	rac.-Aminomalonsäurenitrilamid	127
1.3.	rac.-Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid/ Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid	129
1.4.	5,5-Dicarbamoyloxazolidin	135
1.5.	Serin	139
2.	<b>Blausäuretetramer: Aminomaleinsäuredinitril</b>	<b>141</b>

2.1.	Diaminomaleinsäurenitrilamid	141
2.2.	3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (unbekannte, aber einheitliche Konfiguration der Methylgruppen) rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR)	146
2.3.	Reaktion von Diaminomaleinsäuredinitril mit Formaldehyd	158
<b>3.</b>	<b>Pyrimidine</b>	<b>163</b>
3.1.	2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon	163
3.2.	Reaktion von Aminomalonsäurenitrilamid mit Harnstoff	165
3.3.	Reaktion von Aminomalonsäuredinitril mit Harnstoff	167
3.4.	Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin, basisch katalysiert	168
3.5.	Hydrolyse von 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon, basisch katalysiert	173
3.6.	Hydrolyse von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon, basisch katalysiert	175
3.7.	Reaktion von Diaminouracil mit Ribose	177
<b>4.</b>	<b>Purine</b>	<b>181</b>
4.1.	Isoguanin	181
4.2.	Xanthin	183
4.3.	Xanthin durch Hydrolyse von Isoguanin	185
4.4.	Hydrolyse von Xanthosin bei pH 10 / 100°C	187

4.5.	6-Amino-5-formylaminouracil	190
4.6.	6-Amino-5-formylaminouracil bei pH 10 / 100°C	194
4.7.	5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin	196
<b>5.</b>	<b>Folsäure</b>	<b>203</b>
5.1.	1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon	203
5.2.	Azafolsäure	212
5.2.1.	Ansatz mit Ausbeutebestimmung	212
5.2.2.	Ansatz mit Charakterisierung aller Produkte	213
5.3.	Folsäure durch Hydrolyse der Azafolsäure	220
<b>Literaturverzeichnis</b>		<b>225</b>
<b>Lebenslauf</b>		<b>231</b>



## ZUSAMMENFASSUNG

Angesichts der zentralen Stellung von (aus HCN ableitbaren) 5,6-Diaminopyrimidin-Bausteinen in der Struktur von natürlichen Purinen, Pteridinen und Flavinen wurde in dieser Arbeit die Frage nach der Existenz von elementaren synthetischen Zugängen zu partiell hydrolysierten Derivaten von Tetraaminopyrimidin und 2,6-Diaminopurin, sowie zu Folsäure- und Riboflavin-Vorstufen untersucht.

### Die Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin und 2,6-Diaminopurin

Die hydroxidkatalysierte Hydrolyse (in Ergänzung dazu beschrieb Strupp [17] die säurekatalysierte) von Tetraaminopyrimidin ergab nach 20 Tagen entgast in Natronlauge 2M bei 125°C gemäss HPLC bei 5% Umsatz 1% an 2,5,6-Triaminopyrimidinon-4, 1.3% 4,5,6-Triaminopyrimidinon-2 und 0.5% Diaminouracil. Etwas leichter verliefen die analogen Hydrolysen von 2,5,6-Triaminopyrimidinon-4 und 4,5,6-Triaminopyrimidinon-2 zu Diaminouracil.

In Ergänzung zur bekannten [21] säurekatalysierten Hydrolyse von Diaminopurin isolierten wir bei der analogen von Isoguanin ebenfalls Xanthin in guter Ausbeute.

### Die Hydrolyse von HCN-Oligomeren

Das HCN-Trimere Aminomalonsäuredinitril ist ein zentrales Zwischenprodukt auf dem Weg zu natürlichen Pyrimidin-, Purin- und Pteridinstrukturen. So dokumentierte Trinks [14] seine Reaktion mit Guanidin zum Tetraaminopyrimidin. Aminomalonsäuredinitril ist thermisch nicht sehr stabil und äusserst reaktiv, insbesondere auch gegenüber seinem Ausgangsprodukt HCN, mit dem es zum Tetrameren Diaminomaleinsäuredinitril reagiert. Das Monoamid Aminomalonsäurenitrilamid ist bedeutend stabiler. Die Hydratisierung von Aminomalonsäuredinitril zu seinem Monoamid in neutraler Lösung ist jedoch bei Raumtemperatur weit langsamer als die Zersetzung. Nach unseren Untersuchungen sind aber verschiedene Aldehyde bei pH 8 wirksame Katalysatoren dieser Hydratisierung. Am effizientesten ist Formaldehyd, wovon 2 Äquivalente innert 10min die Hydratisie-

nung von Aminomalonsäuredinitril 20mM in wässriger Lösung bei pH 8 und RT zum Monoamid in 42% Ausbeute ( $^1\text{H-NMR}$ , nach Kristallisation 27%) bewirkten. Daneben entstand 20% Aldolisierungsprodukt Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid. Dieses und sein Diamid Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid, sowie das stabile Endprodukt 5,5-Dicarbamoyloxazolidin konnten bei längeren Reaktionszeiten und zuletzt auch höheren Formaldehydkonzentrationen als kristalline Produkte isoliert werden. Aus 5,5-Dicarbamoyloxazolidin entstand durch Hydrolyse in Natronlauge bei RT und Decarboxylierung kristallin isoliertes DL-Serin in 80% Ausbeute.

Auch das HCN-Tetramer Diaminomaleinsäuredinitril konnte acetaldehydkatalysiert bei pH 8 hydratisiert werden, allerdings bei längerer Reaktionszeit und kleinerer Ausbeute. Bei pH 7 und RT entstand nach 48h aus Diaminomaleinsäuredinitril mit Acetaldehyd ein Addukt, das aber bei der Kristallisation in siedendem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  in ein anderes Diastereomer überging, welches durch eine Röntgenstrukturanalyse als rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) erkannt wurde. Formaldehyd bewirkte eine Zersetzung von Diaminomaleinsäuredinitril bei pH-Werten von 5 bis 8.

Das HCN-Tetramer 5-Aminoimidazol-4-carbonsäurenitril wurde - mit Überschüssen von Formaldehyd katalysiert - bei pH 7 bis 10 und RT vollständig zum 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid hydratisiert.

### **Kondensation von C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Vorläufern zu Pyrimidinen und Purinen**

Aminomalonsäurenitrilamid reagierte mit Guanidin in der Schmelze bei 40°C über 3h zum (potentiellen Folsäure-Vorläufer) 2,5,6-Triaminopyrimidinon-4 in 53% Ausbeute. Bei verschiedenen analogen Reaktionsbedingungen gab Harnstoff mit Aminomalonsäuredinitril, respektive Aminomalonsäurenitrilamid kein 4,5,6-Triaminopyrimidinon-2, respektive Diaminouracil.

In Ergänzung zu literaturbekannten ([14] [19] [20] [22] [59]) Zugängen zu partiell hydrolysierten 5,6-Diaminopurinstrukturen aus geeigneten Pyrimidin- oder Imidazolvorläufern untersuchten wir die Reaktion von Harnstoff mit 5-Aminoimidazol-4-carbonsäurenitril, respektive 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid, welche in guten Ausbeuten Isoguanin, respektive Xanthin gab.

## Riboflavin und Folsäure

Im Bestreben, die komplexe Struktur des Riboflavins auf einfache HCN-abgeleitete Bausteine zurückzuführen, war es in unserem Laboratorium gelungen [17] im Anschluss an die Arbeiten von Wood [25] dafür einen beinahe durchgehenden potentiell präbiotischen Bildungsweg ausgehend von Aminomalonsäuredinitril und Guanidin zu finden. Als einzige Lücke blieb die reduktive Verknüpfung von Diaminouracil mit Ribose zum 6-Amino-5-ribitylaminouracil. Trotz intensiver Bemühungen konnte sie in dieser Arbeit nicht geschlossen werden.

Als Modellreaktion wurde versucht, aus 6-Amino-5-methylaminouracil und 4-Hydroxybenzaldehyd in einem thermischen Schritt das Chromophorsystem von F<sub>420</sub>, dem Riboflavinanalogon von Methanbakterien zu bilden. Die Ausgangsprodukte kondensierten in der Schmelze zum erwarteten Imin, welches aber nicht in die gesuchte Richtung weiterreagierte.

Für die Folsäure dagegen wurde ein durchgehend potentiell präbiotischer Bildungsweg gefunden, von Dunn [15] bis zur Azafolsäure, und von Peng [29] die Hydrolyse dieser Azaform zur Folsäure. 4-Aminobenzonitril kondensierte mit DL-Glycerinaldehyd bei 110°C unter Amadori-Umlagerung zum 1-(4-Cyanophenyl)-amino-3-hydroxy-2-propanon in 18% Ausbeute neben 31% Ausgangsprodukt und 12% anderen isolierten Produkten. Das Amadori-Produkt kondensierte weiter mit freiem Tetraaminopyrimidin in Acetonitril bei 65°C zur (mit authentischem Material identischer) Azafolsäure in 22% Ausbeute neben 8% anderen Pteridinen. Die Azafolsäure wurde in Kalilauge 0.5M bei 100°C in 60% Ausbeute zur (mit authentischem Material identischer) Folsäure hydrolysiert.

Die beschriebene Rückführung der Folsäure auf elementare Ausgangsstoffe mittels elementaren Reaktionen illustriert, dass auch die Folsäure eine elementare Struktur besitzt.

Seite Leer /  
Blank leaf

## SUMMARY

5,6-Diaminopyrimidine building blocks occupy a central position in the structure of natural purines, pteridines and flavines. This study examines elementary synthetic approaches to partially hydrolysed derivatives of tetraaminopyrimidine and 2,6-diaminopurine, as well as to precursors of folic acid and riboflavine.

### Hydrolysis of tetraaminopyrimidine and 2,6-diaminopurine

Hydroxide catalyzes tetraaminopyrimidine hydrolysis. After 20 days, tetraaminopyrimidine in degassed 2M sodium hydroxide at 125°C forms 1% of 2,5,6-triaminopyrimidinon-4, 1.3% of 4,5,6-triaminopyrimidinon-2 and 0.5% diaminouracil at 5% turnover by HPLC. The analogous hydrolysis of 2,5,6-triaminopyrimidinon-4 and 4,5,6-triaminopyrimidinon-2 to diaminouracil proceeded somewhat easier. Strupp [17] has described the complementary hydrolysis catalysed by acid.

The hydrolysis of diaminopurine to xanthine catalysed by acid is described in the literature [21]. We have shown that the analogous acid catalysed hydrolysis of isoguanine also gives xanthine in good yield.

### Hydrolysis of HCN-oligomers

The HCN-trimer aminomalonodinitrile is a central intermediate on the way to the structure of natural pyrimidines, purines and pteridines. Trinks [14] documented its reaction with guanidine to tetraaminopyrimidine. Aminomalonodinitrile is thermally unstable and highly reactive towards the starting product HCN. Aminomalonodinitrile reacts to form the tetramer diaminomaleinodinitrile. The monoamide aminomalononitrilamide is much more stable. The hydration of aminomalonodinitrile to its monoamide in neutral solution at room temperature is far slower than decomposition. According to our investigations, however, different aldehydes at pH 8 are effective catalysts for this hydration. Formaldehyde is the most powerful, whereof 2 equivalents effected in 10min the hydration of 20mM aminomalonodinitrile to the monoamide in 42% yield (<sup>1</sup>H-NMR, after crystallization 27%). The conditions used were aqueous solution, pH 8 and RT. The aldolisation product

amino(hydroxymethyl)malononitrilamide was also formed in 20% yield. Longer reaction times and higher formaldehyde concentrations provided the aldolisation product and its diamide amino(hydroxymethyl)malondiamide, as well as the stable final product 5,5-dicarbamoyloxazolidine in crystalline form. Crystalline DL-Serine in 80% yield has been isolated from sodium hydroxide catalysed hydrolysis of 5,5-dicarbamoyloxazolidine at RT followed by decarboxylation.

Acetaldehyde catalysis results in hydration of the HCN-tetramer diaminomaleinodinitrile at pH 8, although at longer reaction times and lower yields. Diaminomaleinodinitrile reacts with acetaldehyde at pH 7 and RT to provide an adduct. This compound is transformed during crystallization in boiling  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  to another diastereomer, which has been identified by X-ray structure analysis as rac.-3,5-diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octene (1SR, 4SR, 6RS, 8SR). Diaminomaleinodinitrile decomposes in the presence of formaldehyde at pH 5 to 8.

The HCN-tetramer 5-aminoimidazol-4-carbonitrile has been hydrated completely to 5-aminoimidazol-4-carbonic acid amide using formaldehyde catalysis at pH 7 to 10 and RT.

### **Condensation of C<sub>3</sub>- and C<sub>4</sub>-precursors to pyrimidines and purines**

Aminomalononitrilamide can be reacted with guanidine over 3h in the melt at 40°C to 2,5,6-triaminopyrimidinon-4 (a potential precursor of folic acid) in 53% yield. Urea does not give the expected product 4,5,6-triaminopyrimidinon-2 with aminomalonodinitrile under analogous reaction conditions. Attempts to react urea with aminomalononitrilamide have not been successful in providing diaminouracil.

Approaches to structures of partially hydrolysed 5,6-diaminopurines from suitable pyrimidine or imidazole precursors are described in literature ([14] [19] [20] [22] [59]). We have supplemented these results by showing that isoguanine and xanthine can be prepared in good yield by the reaction of urea with 5-aminoimidazol-4-carbonitrile and 5-aminoimidazol-4-carbonic acid amide respectively.

## Riboflavine and folic acid

The research in our laboratory has also focused on elucidating pathways from simple HCN-derived residues to the complex structure of riboflavine. An almost uninterrupted potentially prebiotic pathway starting from aminomalonodinitrile and guanidine has been documented [17] based on the pioneering work of Wood [25]. The reductive coupling of diaminouracil with ribose to 6-amino-5-ribitylamouracil has not yet been realized despite intense efforts.

The formation of the chromophoric system of F<sub>420</sub> (the riboflavine analogue from methane producing bacteria) in one thermal step from 6-amino-5-methylaminouracil and 4-hydroxybenzaldehyde has been tried as a model reaction. The starting products condensed to the expected imine, which however did not give the expected product.

A continuous potentially prebiotic pathway was found for folic acid. Dunn [15] documented a way to azafolic acid, and Peng [29] has hydrolysed this azaform to folic acid. 4-Aminobenzonitrile has been condensed [15] with DL-glyceraldehyde at 110°C and undergoes an Amadori rearrangement to give 1-(4-cyanophenyl)-amino-3-hydroxy-2-propanon. This product was isolated in 18% yield together with 31% starting material and 12% of other products. The Amadori product condensed further in acetonitrile at 65°C with free tetraaminopyrimidine to afford azafolic acid which was isolated in 22% yield together with 8% other pteridines. Hydrolysis of azafolic acid in 0.5M potassium hydroxide at 100°C provided folic acid (identical to authentic material) in 60% yield.

Folic acid is built up through the described sequence of elementary reactions from elementary starting products. Folic acid, therefore, is to be considered to have an elementary structure.

Seite Leer /  
Blank leaf



## ALLGEMEINER TEIL

### 1. EINLEITUNG

Die Frage des Menschen nach dem Ursprung seiner selbst, oder weiter gefasst nach dem Ursprung des Lebens, unserer Erde oder des Weltalls gehört zu seinem Selbstverständnis als Selbst-bewusstes und Selbst-befragendes Wesen. Sie wurde an alle Religionen gestellt und hat eine reiche und faszinierende Sammlung von Schöpfungsmythen hervorgerufen.

Sie gehen von einer dualistischen Vorstellung des Lebens aus, neben der materiellen Grundlage die unstoffliche Seele, der Geist, die Entelechie, Lebenskraft oder wie sie sonst noch genannt wurde. Diese Vorstellung bedingt neben der, zur Schöpfung notwendigen Materie einen Schöpfer, der die Welt formt und insbesondere das Leben erschafft; indem er Tieren und Pflanzen Lebenskraft einhaucht und den Menschen beseelt. Vieles in diesen Schöpfungsmythen ist Spiegel der sie vertretenden, menschlichen Kultur. Sie sind Realität, insofern Menschen daran glauben.

Die nach der Aufklärung entstehende, moderne Naturwissenschaft stellte sich erst recht spät dieser heiklen Frage, die viel Konfliktpotential mit der dogmatischen Kirche barg. Die Auffassung der Naturwissenschaft bezüglich des Lebens war nämlich eine monistische. Sie nahm an, dass die Lebenserscheinungen durch stofflich-physische Faktoren allein bewirkt werden und dass der Unterschied zwischen Organismen und leblosen Dingen durch die stark verschiedene Kompliziertheit ihres Aufbaus aus Atomen, Molekülen und höheren stofflichen Strukturen verursacht sei. Da die Organismen andersartige und sehr viel komplexere Stoffsysteme sind als leblose Dinge, zeigen sich bei ihnen Wirkungen dieses Baus, eben die Lebenserscheinungen - einschliesslich des Bewusstseins - die an viel einfacheren Systemen nicht manifest werden (nach [1]).

Mit der, der Naturwissenschaft ureigenen Methode des Experimentes widerlegte Pasteur 1860 mit seinen gut durchdachten Versuchen die These, dass Mikroben aus faulenden Stoffen entstehen können. Die Ergebnisse ermöglichten die neue Hypothese, dass die Keime auf nicht leicht durchschaubaren Wegen, zum Beispiel über die Luft zu ihrem Entwicklungsort finden.

Damit hatte sich die zweitausendjährige oder sogar ältere Vorstellung der rezenten, das heisst gegenwärtigen oder immer wiederkehrenden Urzeugung als falsch erwiesen. Dies war wohl die einzige Theorie der Urzeugung die falsifiziert werden konnte. Trotz dogmatisch verordneter, dualistischer Sicht über Jahrhunderte, hatte sich diese Vorstellung wohl wegen der Autorität ihres Vertreters Aristoteles' gehalten.

Damit war die rezente Urzeugung so entschieden widerlegt, dass trotz grossen Fortschritten in anderen Naturwissenschaften wie Geologie, Paläontologie, Astronomie und vor allem der Biologie mit Darwins 1859 veröffentlichten "Theorie der natürlichen Selektion" die eigentlich dadurch herausgeforderte Fragestellung nach der primären Biogenese (stammesgeschichtlichen Urzeugung) unangetastet blieb.

Immerhin zeigte der Chemiker Wöhler [2] 1828 mit der thermischen Umwandlung von, als "mineralisch" geltendem Ammoniumcyanat in den "animalischen" Harnstoff, dass zwischen mineralischer und organischer Chemie (der "animalischen" Produkte) keine besondere, nicht-chemische Schwelle besteht (Abb. 1).

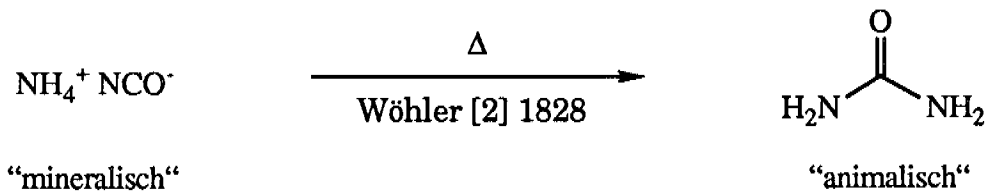


Abbildung 1: Mit der Umwandlung von Ammoniumcyanat in Harnstoff nach Wöhler [2] wurden die organische und die mineralische Chemie als einheitlich erkannt.

1922 berichtete der Biochemiker Oparin [3a] vor der botanischen Gesellschaft zu Moskau über seine Vorstellungen einer möglichen Entstehung von potentiellen Biomolekülen in geologischer Umgebung, dies unter Bedingungen, wie sie zur präbiotischen Zeit geherrscht haben könnten. Ähnliche Ideen veröffentlichte Haldane [3b], ein anderer Biochemiker, unabhängig davon 1929 im "Rationalist Annual" in Grossbritannien.

Ihre Theorie geht ursprünglich von einer Korrelation der Elementhäufigkeiten im Weltall mit den, in der organischen Chemie gebräuchlichen Elementen aus. Diese treten in einer reduzierenden Atmosphäre als  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CH}_4$  und  $\text{CO}_2$  aber nicht als  $\text{O}_2$  auf. Ein wichtiges Postulat daraus be-

sagt, dass das Leben in einem warmen Urozean mit den dafür notwendigen, verdünnt gelösten Stoffen entstanden ist, ein Bild, das als "Haldane-Ursuppe" schon beinahe volkstümlich geworden ist.

1953 begann Miller [4] mit seinem berühmten Experiment - kurz nach der Buchpublikation seines Doktorvaters, des Physikers Urey über die Planeten und ihre Atmosphäre - die experimentelle Erforschung dieser Theorie: Drei, in natürlichen Proteinen enthaltene Aminosäuren entstanden bei Einwirkung von elektrischen Entladungen auf ein sauerstofffreies Gemisch von Methan, Ammoniak, Wasserstoff und Wasserdampf (Abb. 2).

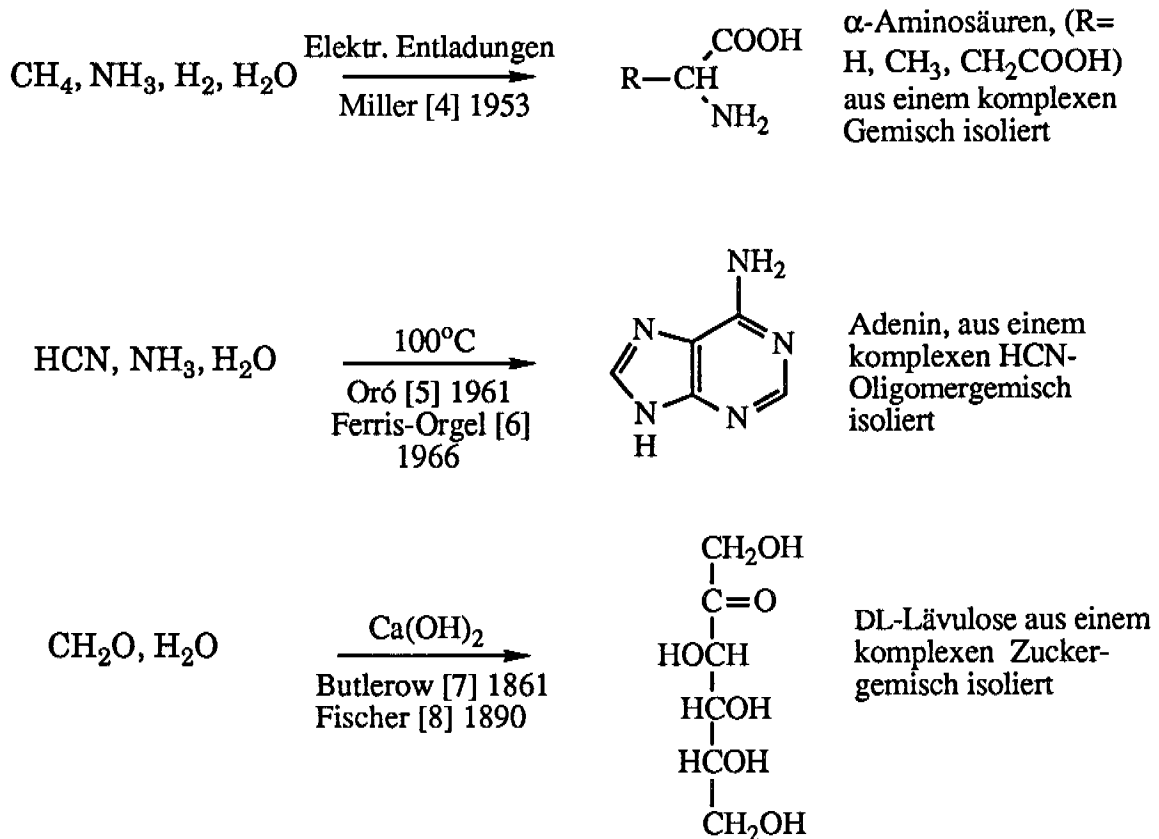


Abbildung 2: Potentiell präbiotische Wege zu drei wichtigen Naturstoffgruppen

Dazu die 1960 von Oró [5] in heisser, wässriger Lösung von Ammoniumcyanid beobachtete Bildung von Adenin, die Ultraviolettlicht benötigende Variante davon nach Ferris-Orgel [6] und die, im Nachhinein in diesem Kontext als wichtig erkannte Formosereaktion zur Bildung von Zuckern - von Butlerow [7] entdeckt und von Emil Fischer [8] fundiert - all diese Experimente stehen im oben abgesteckten Rahmen und gehören mittlerweile zu den Stützen der sogenannt präbiotischen Chemie (Abb. 2).

Die für eine Weiterentwicklung dieser monomeren Strukturen wichtige Frage nach den grundsätzlichen, thermodynamischen Möglichkeiten der Materie, sich selbst zu organisieren und zu evolvieren, wurde von Eigen [9a] und Kuhn [9b] durchdacht und bejaht.

Der synthetische Chemiker kann das Problem experimentell angehen und so den strukturellen Verlauf potentiell präbiotischer Entstehungsprozesse von grundlegenden, biomolekularen Strukturen untersuchen. Wenn er dabei die Rahmenbedingungen nicht limitierend versteht, können seine Experimente eine befruchtende Rückwirkung auf die Vorstellungen über diese Bedingungen haben.

## 1.1. ZUGELASSENE AUSGANGSSTOFFE UND BEDINGUNGEN

Für die Rahmenbedingungen, die zur Zeit der postulierten präbiotischen Entstehung von Biomolekülen geherrscht haben, existieren heute allgemein akzeptierte Vorstellungen. Der erdhistorische Erkenntnisstand in Geologie, Paläontologie und Biologie ist zudem konvergent mit den Ergebnissen von Simulationsexperimenten und Beobachtungen in extraterrestrischen<sup>1</sup> Räumen.

Für die präbiotische Chemie zentral sind die Bedingungen einer sauerstofffreien Atmosphäre<sup>2</sup>, sowie vielfältigen und starken Energiequellen; als geothermische Wärme, elektrische Entladungen, ultraviolettes Licht<sup>3</sup> und eventuell auch als nukleare Strahlung. Basen und mineralische Oberflächen sind dabei als Katalysatoren zugelassen. Als Reaktionstypen sind aus statistischen Gründen monomolekulare Reaktionen bevorzugt oder bimolekulare, bei denen ein Reaktionspartner als ubiquitär gelten kann.

Aus Gründen der chemischen Reaktivität wurde bei ersten Untersuchungen in unserem Labor zur Entstehungsmöglichkeit stickstoffhaltiger Biomolekülstrukturen auch Wasser ausgeschlossen. Das aus Derivaten von Cyanwasserstoff, Dicyan, Cyanoacetylen und Ammoniak stammende Reaktionspotential wäre bei einer vorzeitigen Hydrolyse verloren. Der richtige Zeitpunkt der - zum Naturstoff führenden - Hydrolyse gehört mit zu den Untersuchungsgegenständen im speziellen auch dieser Arbeit. Die Abwesenheit von molekularem Sauerstoff hat übrigens analogen, reaktivitätserhaltenden Charakter. Die Fülle von ungesättigten Bindungen in den Ausgangsstoffen

---

<sup>1</sup>Die Fragen der präbiotischen Chemie beschränken sich nicht auf die irdische Biogenese, sondern münden in die Erwägung der Möglichkeiten einer - der hiesigen verwandten - Exobiologie in anderen Räumen des Weltalls.

<sup>2</sup>Durch die Photosynthese der Pflanzen mit Sauerstoff als Nebenprodukt hatten sich die Bildungswege der präbiotischen Chemie geschlossen und gleichzeitig erübrigt.

<sup>3</sup>Ohne Sauerstoff konnte sich keine UV-Strahlen-absorbierende Ozonschicht um die Erde bilden.

und Zwischenprodukten stellt in diesem anaeroben, von chemischen Prinzipien dirigierten Umfeld ein effizientes Mittel zur Energiespeicherung dar. In unserer heutigen sauerstoffhaltigen, die Verbrennung ermöglichenden Atmosphäre sind gesättigte organische Verbindungen - zum Beispiel Fette - bessere Energiespeicher als ungesättigte [10]. Um ihre gespeicherte Energie für biochemische Reaktionen zur Verfügung zu stellen, ist allerdings auch ein komplexer Enzymapparat vonnöten.

Gemäss Rahmenbedingungen, literaturbekannten Reaktionen und den Ergebnissen bisheriger Arbeiten in unserer Gruppe (vgl. insbesondere die Dissertationen von Bold [11], Xiang [12] und Drenkard [13]) wurden die in Abb. 3 folgenden Ausgangsstoffe und die aus ihnen rahmengerecht entstehenden Produkte zugelassen (erweiterte Auswahl aus [14], dort mit Literaturverweisen):

**-Blausäure HCN** und seine Oligomeren Iminoacetonitril **1**, Aminomalonsäuredinitril **2** und Diaminomaleinsäuredinitril **3**, sowie die Ammonolyse-/Hydrolyseprodukte von HCN: Formamidin **4**, Formamid **5** und Ameisensäure **6**.

**-Dicyan NC-CN** und seine Ammonolyseprodukte Cyanamid **7** und Guanidin **8**, sowie die Hydrolyseprodukte Harnstoff **9** und Cyansäure **10**.

**-Cyanoacetylen NC-CCH** und seine Ammonolyseprodukte E/Z 3-Aminopropennitril (E/Z  $\beta$ -APN) **11**, dessen (postuliertes) Strukturisomeres 2-Aminopropennitril ( $\alpha$ -APN) **12** und sein Photozyklisationsprodukt Aziridin-2-carbonitril **13**.

**-Acetonitril CH<sub>3</sub>CN** und Malonsäuredinitril **14**, das Hochtemperaturkondensationsprodukt von Acetonitril und Dicyan.

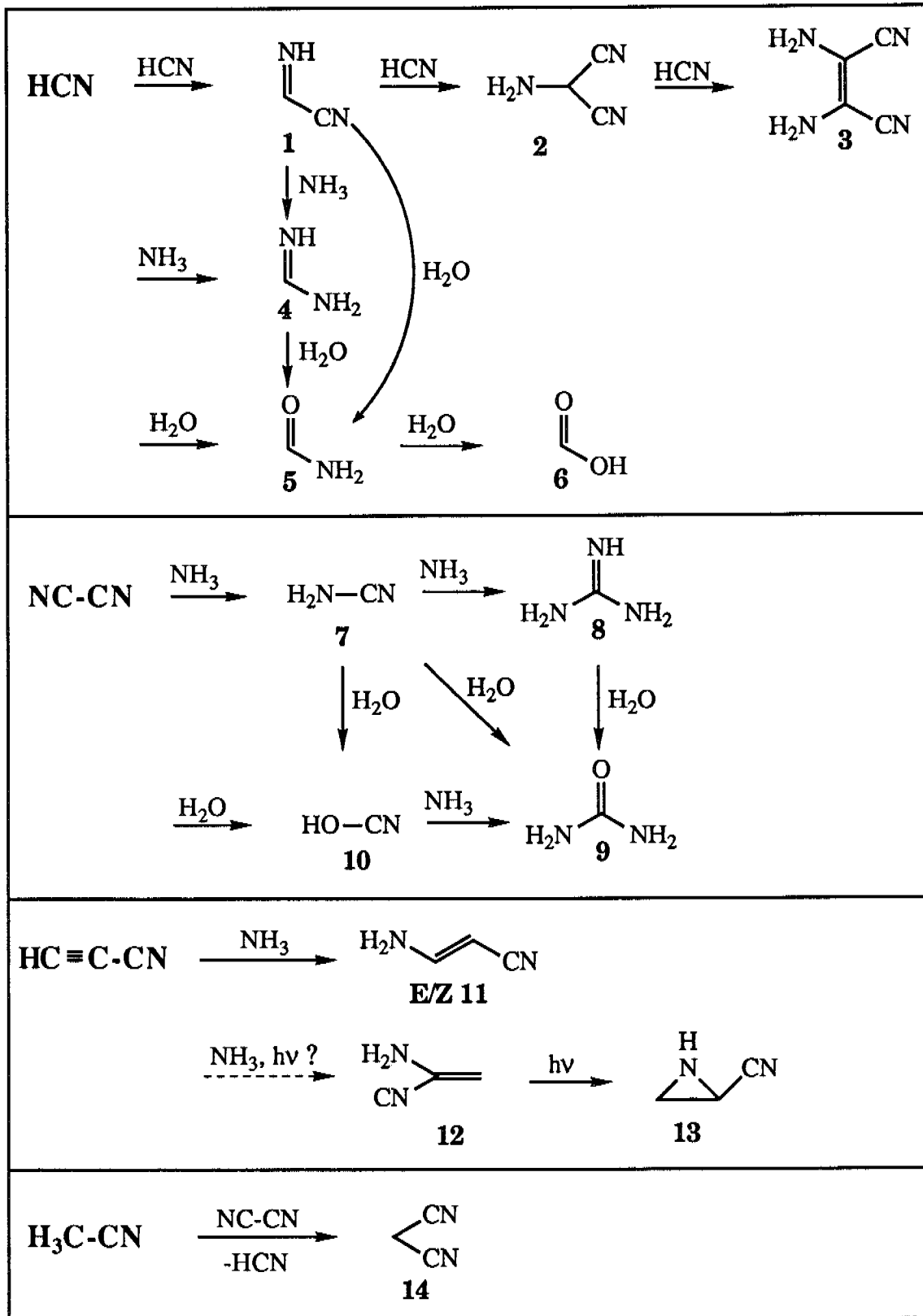


Abbildung 3: Zugelassene Ausgangsstoffe und deren Derivate

## 1.2. PROBLEMSTELLUNG

### 1.2.1. Von den Azaformen der Pyrimidin-, Purin- und Pteridinbausteine zu den natürlichen Formen

Die Pyrimidine, Purine und Pteridine haben als grundlegende Biomolekülbausteine Anlass zu vielen veröffentlichten Arbeiten gegeben. Neben den biochemischen Untersuchungen gibt es solche mit rein chemischer Fragestellung. Die dabei gewählten Bedingungen sind aber teilweise durchaus mit unseren Rahmenbedingungen vereinbar. Andere wurden unter rein präbiotischen Gesichtspunkten durchgeführt. Ein Ziel dieser Arbeit war es, diese Informationen aus der Literatur zu einem Ganzen zusammenzutragen, das ein geschlossenes Netz dieser Strukturelemente bilden soll. Um dieses geschlossene Netz zu erreichen, werden Lücken zu schliessen sein. Dies ist ein weiteres Ziel dieser Arbeit, das sich durch die fundamentale Bedeutung der in Frage stehenden Biomolekülbausteine rechtfertigt.

Die ersten Arbeiten in unserer Gruppe [14] [15] zu diesen Strukturen begannen zuerst aus den beschriebenen Gründen mit dem wasserfreien Aufbau der Azaformen. Um schliesslich zu den natürlichen Formen zu gelangen, war eine nachträgliche Hydrolyse notwendig. Die Arbeiten von Trinks [14] führten zu Tetraaminopyrimidin **15**, einem potentiellen Vorläufer für Pteridine, Flavine und Purine. Die Hydrolyse von **15** wurde von ihm nicht untersucht. Gemäss Literatur [16] wurde bei einem säurekatalysierten Hydrolyseversuch nur **15** zurückisoliert. In unserem Laboratorium wurde aber von Strupp [17] erstmals gezeigt, dass bei säurekatalysierter Hydrolyse die beiden Monolactame **16** und **17** entstehen. Später fand er auch geringe Mengen des Dilactams **18**. Basisch katalysierte Hydrolyse, die wegen der Oxidationsempfindlichkeit dieser Aminopyrimidine in solcher Lösung voraussichtlich experimentelle Probleme stellte, war nie versucht worden.



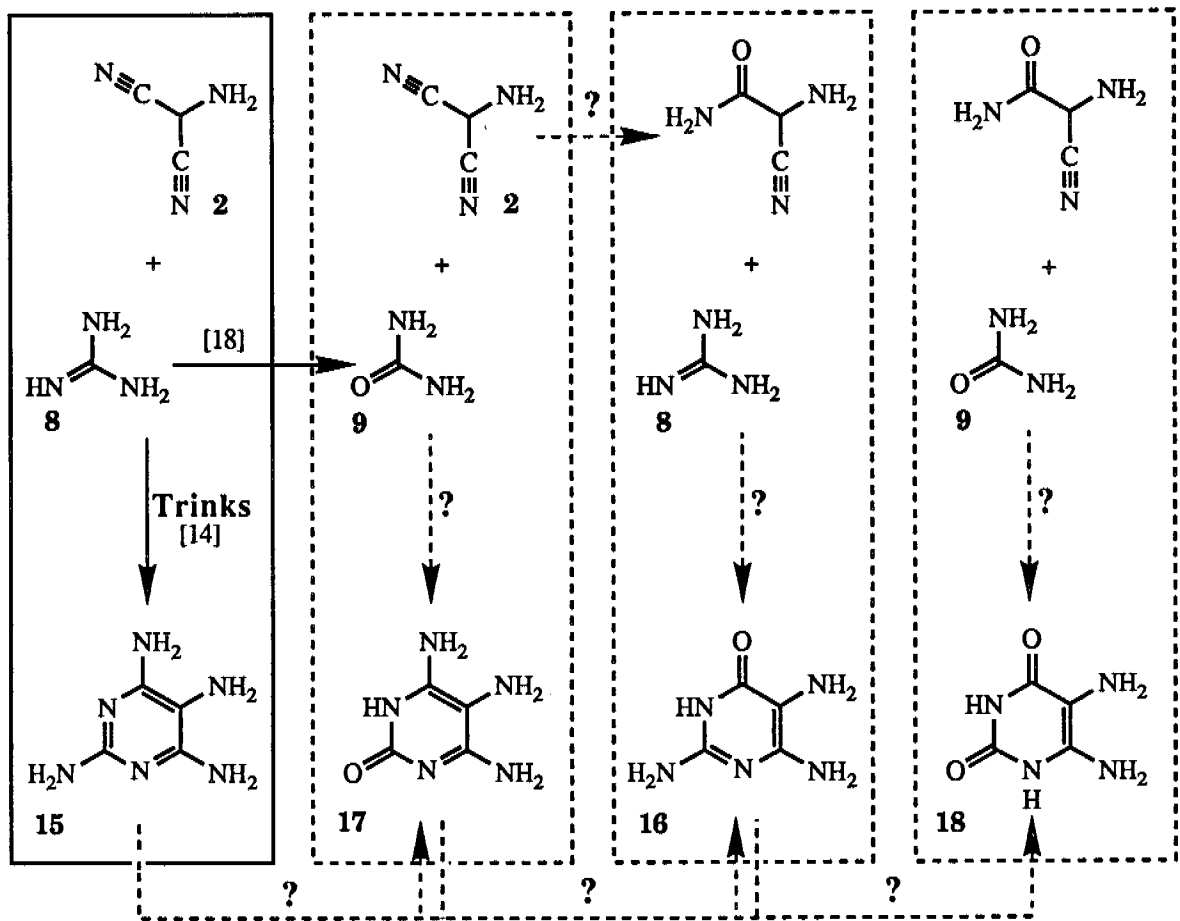


Abbildung 4: Tetraaminopyrimidin 15 und mögliche Wege zu seinen partiell hydrolysierten Derivaten 16-18

Ausser einer nachträglichen Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin 15, wie in Abb. 4 auf der letzten Zeile dargestellt, besteht die Möglichkeit teilweise hydrolysierte, azyklische Zwischenstufen zu gesuchten, partiell hydrolysierten Aminopyrimidinen zusammenzufügen. Diese Zugänge sind in Abb. 4 in den gestrichelt umrahmten Feldern angedeutet. Dabei bedeuten ausgezogene Pfeile realisierte, literaturbekannte Reaktionen. Die mit gestrichelten Pfeilen angedeuteten Verknüpfungen waren in dieser Arbeit zu untersuchen. So stellte sich die Frage, ob durch geeignete Kombination und Kondensation gemäss Abb. 4 neben Tetraaminopyrimidin 15 auch die anderen, partiell hydrolysierten Aminopyrimidine 16 - 18 entstehen.

Ähnliche Untersuchungen sind auch bei den Purinen anzustellen. Tetraaminopyrimidin 15 ist - wie bei uns und anderswo ([14] [19]) gezeigt worden ist - ein Vorläufer von Diaminopurin 19. Hier ist eine nachträgliche, mit

starker Säure katalysierte Hydrolyse von Trattner und Mitarbeitern [21] beschrieben worden. Hydroxidkatalysiert isolierten sie nur Edukt, also **19** zurück. Alle Purine **19** - **22** in Abb. 5 sind auch aus den entsprechenden Aminoimidazolen **15** - **18** mit Formamid **5** zugänglich. Die Bildung von Diaminopurin **19** und Isoguanin **21** aus geeigneten Imidazolbausteinen **23** und **24**, sowie Guanidin **8** wurde von Asai [20] nachgewiesen. In dieser Arbeit waren also noch die mit gestrichelten Pfeilen oder Umrahmungen angedeuteten Reaktionsmöglichkeiten zu untersuchen.

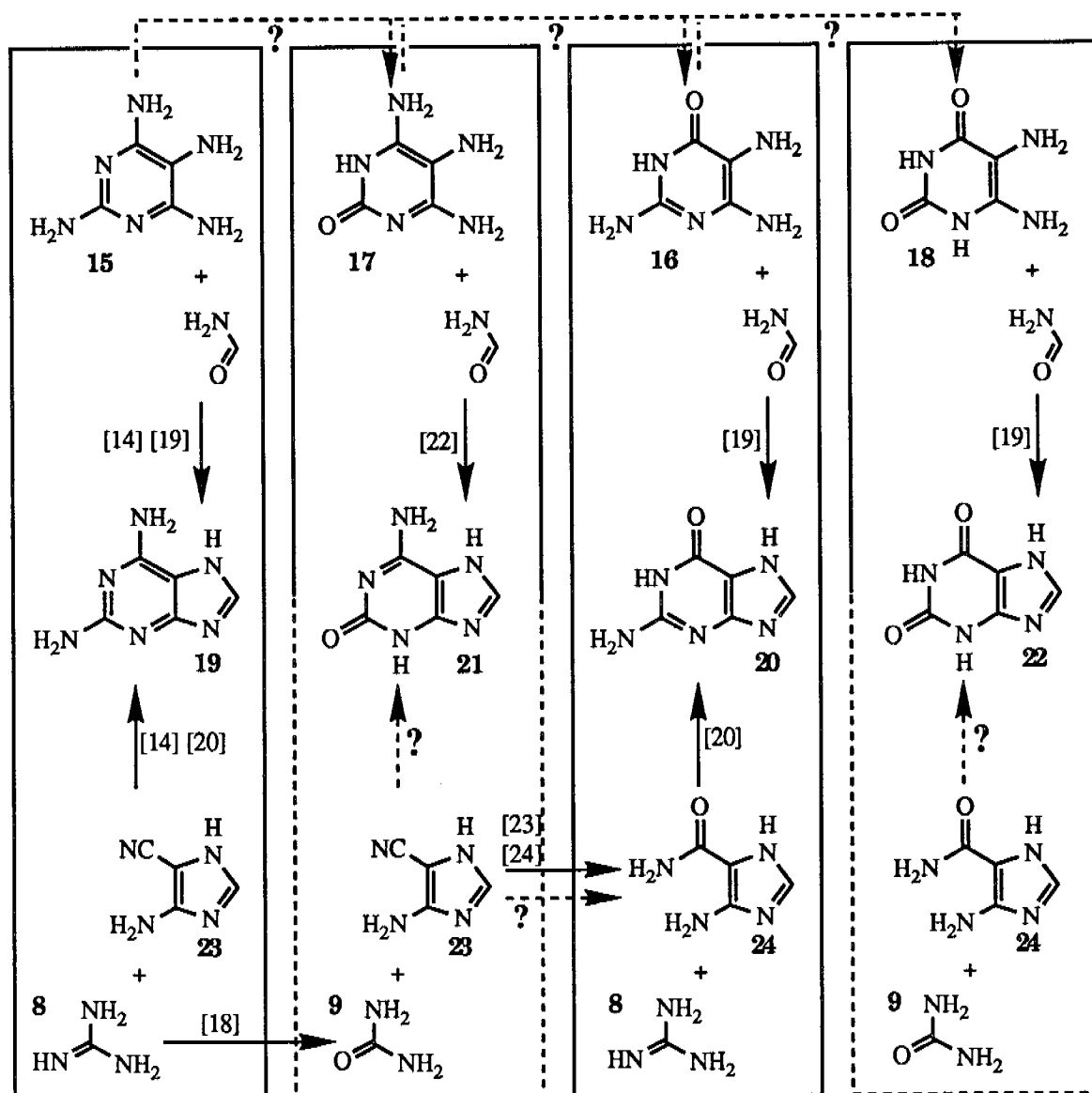


Abbildung 5: Diaminopurin **19** und abgeleitete, partiell hydrolysierte Purine **20** - **22** durch verschiedene Zugänge

## 1.2.2. Riboflavin, F<sub>420</sub> und Folsäure

Ausgehend von den beschriebenen, partiell hydrolysierten Aminopyrimidinen **15** - **18**, wurden in unserem Laboratorium potentiell präbiotische Zugänge zu komplexeren Kofaktorstrukturen gesucht.

Strupp [17] untersuchte dabei die Riboflavinstruktur. Rowan und Wood [25] erkannten bei Untersuchungen zur Biosynthese von Riboflavin **29**, wo das bicyklische 6,7-Dimethyl-8-D-ribityllumazin **28** enzymgesteuert zum Riboflavin **29** und 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26** reagiert, dass dieselbe Reaktion auch ohne Enzym in einem Phosphatpuffer bei pH 7.3 und 100°C ablaufen kann. Diese mechanistisch komplexe Reaktion in der Biosynthese ist also eigentlich chemomimetischer Art. Sie läuft auch in rein chemischer Umgebung ab und dazu noch bei "gewöhnlichen" und auch rahmengerechten Bedingungen. Die Koinzidenz der Bio- und Chemosynthese in diesem Schritt ist für einen potentiell präbiotischen Bildungsweg so bedeutend, dass es nahe lag auch andere Biosyntheseschritte auf Chemomimese zu prüfen. In einer retrosynthetischen Analyse (Abb. 6) wurde in Anlehnung an bekannte Biosyntheseschritte ein möglicher Syntheseweg zurückverfolgt, um schliesslich an Tetraaminopyrimidin **15** anzuknüpfen.

Die Analyse (Abb. 6) [17] zeigte, dass für einen durchgehenden Selbstkonstitutionsweg zu Riboflavin **29** noch folgende drei Probleme zu untersuchen waren:

- 1) Hydrolyse des 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidins **15** zum 5,6-Diaminouracil **18** oder direkten Zugang zu **18** wie in Abb. 4 angedeutet.
- 2) Reduktive Verknüpfung von 5,6-Diaminouracil **18** mit D-Ribose **25** zum 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26** (Abb. 6, oben).
- 3) Kondensation von 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26** mit D-Ribulose-1,5-diphosphat **27** zum 6,7-Dimethyl-8-D-ribityllumazin **28** (Abb. 6, unten).

Das dritte Problem untersuchte Strupp [17]. Er fand 6,7-Dimethyl-8-D-ribityllumazin **28** in Ausbeuten bis 9.4% (Abb. 6) aus 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26** mit D-Ribulose-1,5-diphosphat **27** bei pH 7.3 und 120°C nach 30min unter Licht- und Sauerstoffabschluss. In analogen Experimenten, wo er

anstelle von D-Ribulose-1,5-diphosphat **27** das äquivalente 2,3,4-Pentantrion verwendete, isolierte er 33.8% 6,7-Dimethyl-8-D-ribityllumazin **28**.

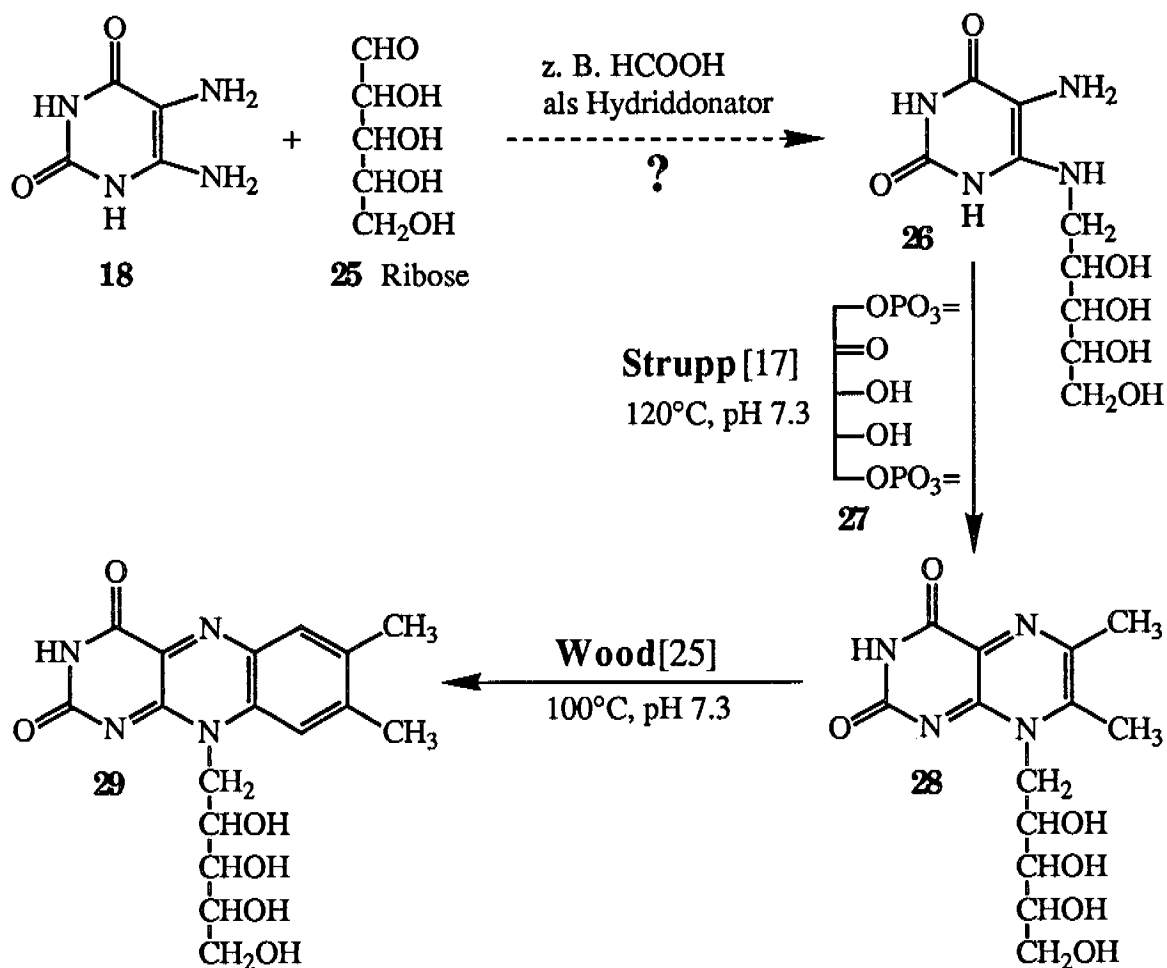


Abbildung 6: Ein teilweise realisierter, potentiell präbiotischer Zugang zu Riboflavin **29**

Eine säurekatalysierte Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin **15** zum Diaminouracil **18** wurde von Strupp [17] nachgewiesen. Hydrolyseversuche im basischen Milieu und direkte Bildungswege sind wie erwähnt (Kapitel 1.2.1.) Gegenstand dieser Arbeit.

So bleibt als zentrales Problem noch das zweite, nämlich der potentiell präbiotische Bildungsweg von 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26**. Nachdem die Wood'sche Reaktion den Fingerzeig gegeben hatte und Strupp die Bildung des vorangestellten Lumazins **28** aus 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26** und D-Ribulose-1,5-diphosphat **27** bei analogen Bedingungen nachgewiesen hatte, war es naheliegend den Nachweis der Existenz auch des letzten Schrittes (Abb. 6, oben) auf diesem "Königsweg" zum Riboflavin **29** zu versuchen.

Grundsätzlich ist 6-D-Ribitylamino-5-aminouracil **26** aus Diaminouracil **18** und Ribose **25** unter Mitwirkung eines Reduktionsmittels zugänglich (vgl. Abb. 6, oben). Das einfachste, innerhalb der Rahmenbedingungen zulässige ist dabei Ameisensäure **6**. Andere mögliche wären die bereits beteiligten Aminopyrimidine **15** - **18**.

Die Reaktion mit Ameisensäure **6** als Reduktionsmittel wäre dabei eine komplexere Variante der Leuckart-Wallach-Reaktion. Komplex deshalb, weil sich bei 5,6-Diaminouracil **18** literaturbekannt<sup>1</sup> aus Konjugationsgründen nur die 5-Aminogruppe wie eine normale Aminogruppe verhält. Die 6-Aminogruppe hat dagegen vinylogon Amidcharakter. So war das unterschiedliche chemische Verhalten für diesen spezifischen Fall experimentell zu verfolgen und für eine selektive 6-Amino-Alkylierung auszunutzen. Eventuell wäre eine zusätzliche Abstufung der Reaktivität durch Wahl einer Hydrolysevorstufe (vgl. Abb. 4) von Diaminouracil **18** möglich; so wären natürlich die entsprechenden Aminogruppen von Tetraaminopyrimidin **15** nukleophiler. Die Hydrolyse hätte dann eben später zu erfolgen.

Derselbe Baustein **26** könnte prinzipiell auch zu 8-Hydroxy-10-D-ribityl-5-deazaisoalloxazin **30** (Abb. 7) führen, dem Chromophorteil des 1972 entdeckten [27] und 1978 strukturell aufgeklärten [28] F<sub>420</sub> **31** (Abb. 7), einem Kofaktor methanogener Bakterien. In einer einfacheren Modellreaktion konnten zuerst analoge Versuche zur Bildung von 8-Hydroxy-10-methyl-5-deazaisoalloxazin **32** (Abb. 7) angestellt werden. Dabei konnte man das, schon von Strupp für Modellreaktionen in der Riboflavinreihe verwendete, 6-Methylamino-5-aminouracil **33** als Ausgangsmaterial benutzen. Als carbozyklischer Koppungspartner wurde 4-Hydroxybenzaldehyd gemäss einem später (Kapitel 8) besprochenen, hypothetischen Mechanismus eingesetzt.

---

<sup>1</sup>Zum Beispiel in der Reaktivität gegenüber Aldehyden [26]

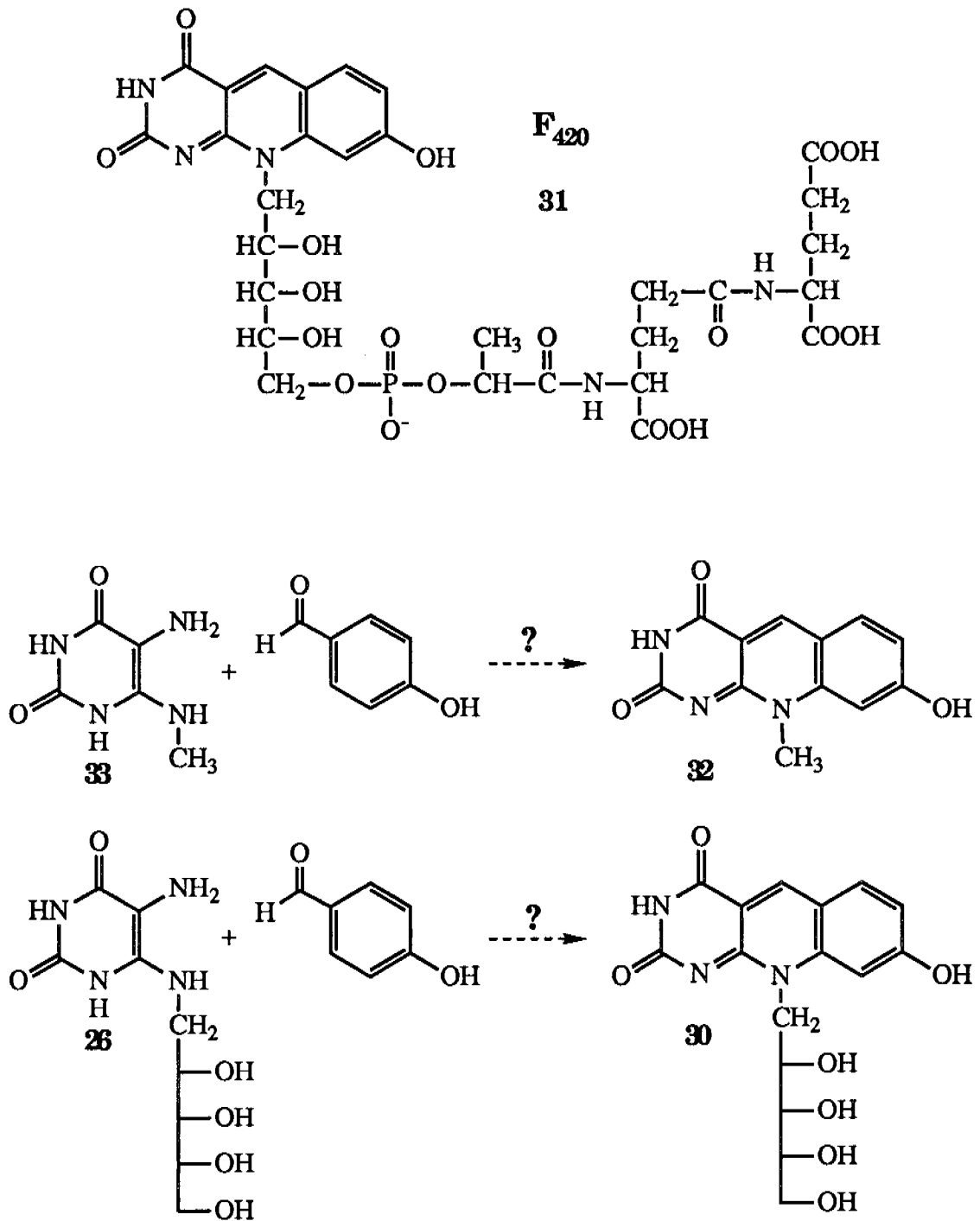


Abbildung 7: Von 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** zum 8-Hydroxy-10-D-ribityl-5-deazaalloxazin **32**, dem Chromophorteil von  $\text{F}_{420} **31**. Beziehungswise als Modellreaktion **33** zu **32**.$

Ein weiterer, grundsätzlich aus Tetraaminopyrimidin **15** zugänglicher Kofaktor ist Folsäure<sup>1</sup> **34**. Dunn [15] bearbeitete einen der potentiell präbiotischen Bildungswege zur Azafolsäure **38** und Peng [29] hydrolysierte diese Azaform **38** selektiv zur Folsäure **34**. Neben **15** sind dazu die beiden, potentiell präbiotisch zugänglichen (vgl. Abb. 8, oben) Ausgangsstoffe 4-Aminobenzonitril **35** [30] und rac.-Glycerinaldehyd **36** [31] notwendig. Als erstes stellte sich für Dunn die Frage, ob mit der schwach basischen Aminogruppe von **35** eine Amadori-Umlagerung an **36** möglich sei. Weiter hatte er zu versuchen, dieses Amadori-Produkt **41** mit Tetraaminopyrimidin **15** zu einem Pteridin, der Azafolsäure **38** zu kondensieren, die schliesslich selektiv in Position 4 hydrolysiert (vgl. Abb. 8, Mitte) werden muss. Dies ist allerdings für analoge 2,4-Diaminopteridine gut dokumentiert ([32-35]). Auch der direkte Weg von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** und eventuell 4-Aminobenzoessäure **39** anstelle von Tetraaminopyrimidin **15** und 4-Aminobenzonitril **35** ausgehend, wird zu prüfen sein (vgl. Abb. 8, unten). Die (Halb-)Aza-Formen der Folsäure müssen schliesslich durch eine nachträgliche Hydrolyse in Folsäure **34** übergeführt werden.

---

<sup>1</sup>Zur Nomenklatur: Unter Folsäure **34** wird hier die freie Säure ohne Glutaminsäurerest verstanden. Die Azafolsäure **38** ist die korrespondierende Form vor jeglicher Hydrolyse, das heisst Nitril- statt Säurefunktion und Amidfunktion anstelle der Amidfunktion im Pteridinteil.

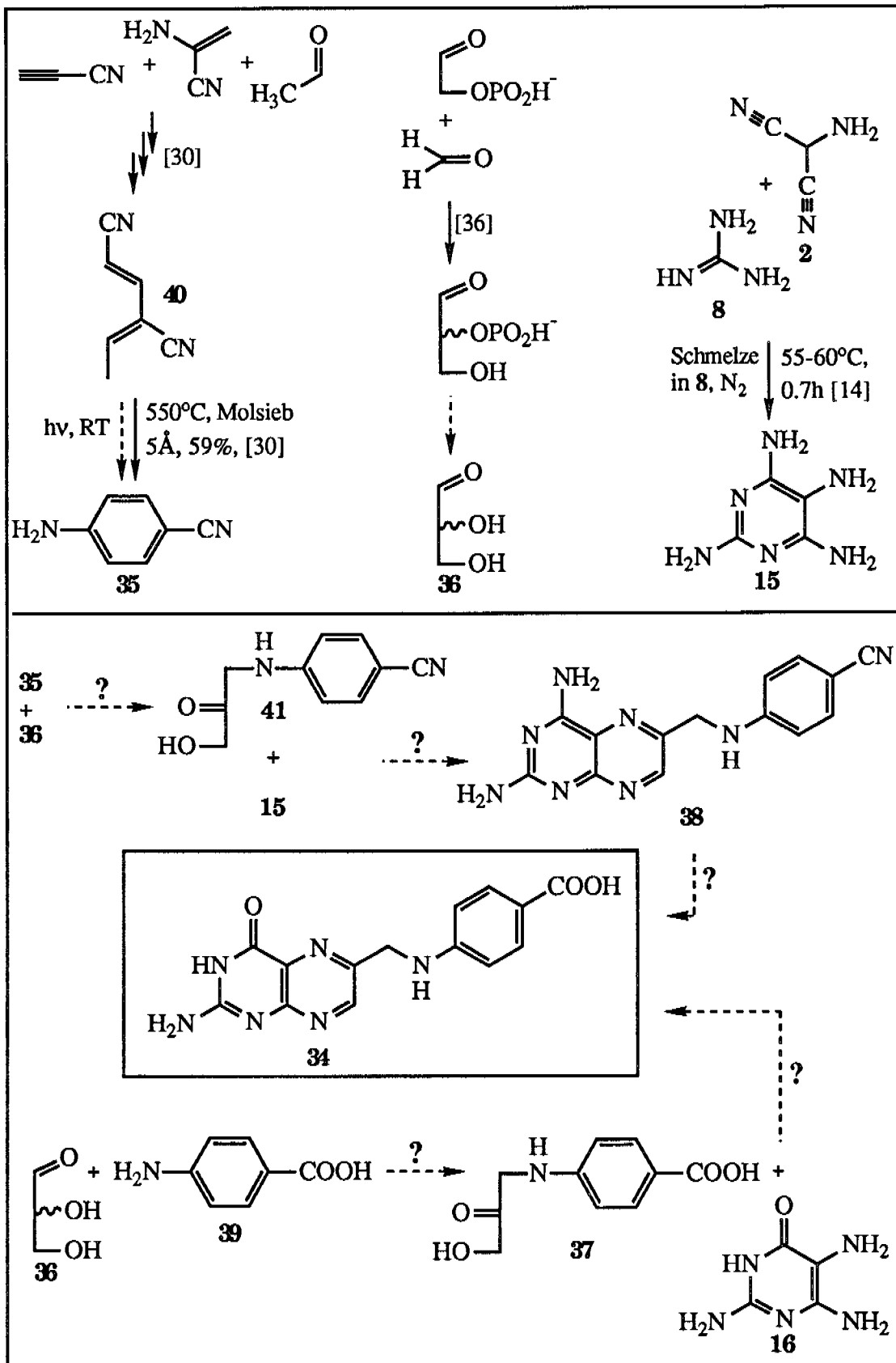


Abbildung 8: Zu prüfende Reaktionen und Edukte auf dem Weg zur Folsäure 34



## 2. BLAUSÄUREOLIGOMERE UND DICYAN : LITERATUR- UEBERSICHT

### 2.1. Die Oligomerisation von Blausäure

Wie Abb. 9 darstellt, neigt Blausäure im pH-Bereich von neutral bis basisch zur Selbstkondensation [5] [24]. Sowohl das Dimer Cyanimin **1**, wie auch das Trimer Aminomalonsäuredinitril **2** sind so instabil gegenüber ihrem Edukt HCN, dass sie bisher nicht direkt in einer Oligomerisationslösung nachgewiesen werden konnten. Das erste stabile und isolierte Oligomer aus solchen Lösungen ist Diaminomaleinsäuredinitril **3**.

Hingegen wurde das Cyanimin **1** wurde aber oxidativ [12] und pyrolytisch [37] auf konventionellem Weg hergestellt.

Das Trimer **2** ist in Form seines Tosylat-Salzes **2T** stabil und kristallin. Zur präparativen Herstellung von Aminomalonsäuredinitril-Tosylat **2T** sind mehrere Methoden bekannt [38]. Die freie Base Aminomalonsäuredinitril **2** ist zum ersten Mal in unserem Laboratorium von Trinks [14] freigesetzt und charakterisiert worden. Für beide, das Dimer **1** [12] und das Trimer **2** [24] konnte gezeigt werden, dass sie sich in einer Blausäurelösung in das weit stabilere Tetramer Diaminomaleinsäuredinitril **3** umwandeln. Dies beweist ihre Existenz im Oligomerisierungsprozess zwar nicht, ist aber ein starker Hinweis dafür und widerlegt sicher die Gegenannahme.

Das Blausäurepentamer Adenin **42** ist dank seiner Aromatizität das stabilste Oligomer. Es kann direkt in einer HCN-Lösung entstehen [5] oder über einen photochemischen Zwischenschritt, in dem Diaminomaleinsäuredinitril **3** bei 350nm zu 5-Aminoimidazol-4-carbonitril **23** reagiert [39-41]. **23** entsteht auch ohne Licht [41] aus Aminomalonsäuredinitril **2** und Formamidin **4**, womit **23** auch zu Adenin **42** weiterreagieren kann. Das HCN-Tetramer N-(Aminocyanomethyliden)-glycinnitril **43** wurde in unserem Laboratorium von Xiang [12] aus einer Lösung des Dimeren **1** isoliert, zusammen mit dem Pentameren 2,3-Diamino-2-cyanobutandicarbonitril **44**, für welches er einen Bildungsweg aus dem Dimeren **1** und dem Trimeren **2** aufzeigte.

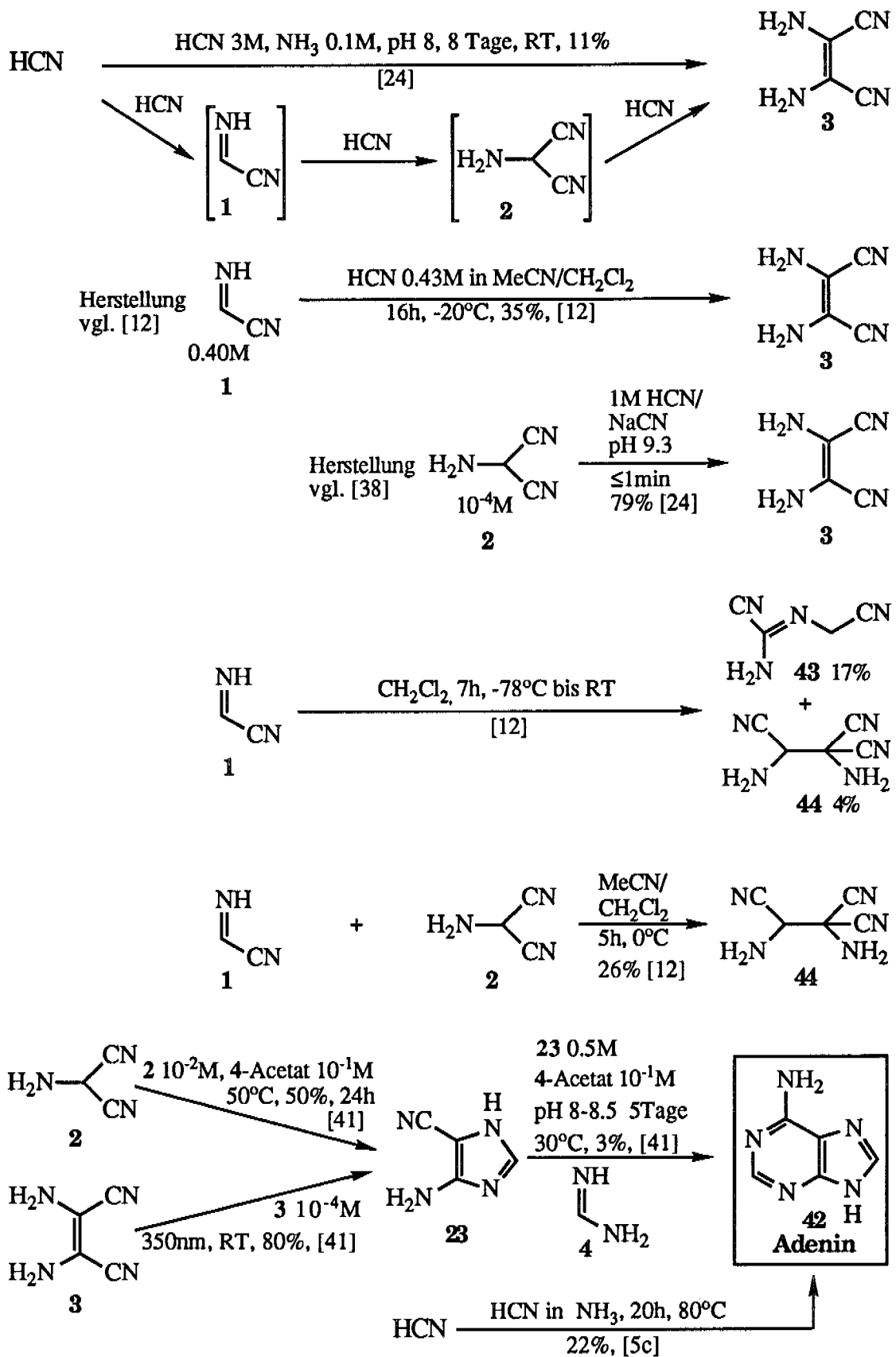


Abbildung 9: Oligomerisierungsprodukte von Blausäure

## 2.2. Dicyan: Seine Hydrolyse und Ammonolyse

Das Auftreten von Dicyan in - elektrischen Entladungen unterworfenen - Gasgemischen mit C-, H- und N-Quellen, sowie sein Nachweis im interstellaren Raum machen es zu einem wichtigen Edukt der präbiotischen Chemie. Experimentell sind Zusammenhänge mit Harnstoff und Guanidin belegt worden, wie Abb. 10 zeigt.

Wöhler ([2] [42]) isolierte 1828 nach wiederholtem Sättigen einer Ammoniaklösung mit Dicyan bei Raumtemperatur nach mehreren Tagen Harnstoff. Diese potentiell präbiotische Harnstoffsynthese steht in einem gewissen Sinne auch am Ausgangspunkt der synthetischen, organischen Chemie.

Die direkte Ammonolyse von Dicyan in flüssigem Ammoniak während 20h bei 35°C ergibt nach einem Patent von Ito [43a] in 17% Ausbeute Guanidin **8**, das als Pikrat isoliert wurde. Ob die geringe Ausbeute an **8** durch Bildung von Cyanamid **7** bedingt ist, wurde nicht erwähnt. In einem früheren Patent hatte Ito [43b] beschrieben, dass Dicyan in flüssigem Ammoniak bei -70°C nach Versetzen mit Phosphorsäure Oxalsäurediamidinphosphat in 88% Ausbeute ergab. Jacobsen und Emmerling [44a] isolierten 1871, nachdem sie ein trockenenes Gasgemisch von Dicyan mit einem Überschuss gasförmigem Ammoniak bei Raumtemperatur reagieren liessen, ein pechschwarzes, festes Produkt mit der Summenformel  $C_4N_6H_6$ , das sie als Hydrazulmin bezeichneten. Durch Einleiten von Dicyan in wässrigen, konzentrierten Ammoniak erhielten sie ein anderes Produkt der Summenformel  $C_4N_5H_5O$ , das als Azulminsäure bezeichnet wurde. Letztere hatten sie ebenfalls durch Hydrolyse von Hydrazulmin in Wasser bei Raumtemperatur erhalten. Die oben beschriebenen Experimente zeigen, indem kein Cyanamid **7** isoliert wurde, dass der Übergang von Dicyan zu **7** spezielle Bedingungen erfordert, nämlich Alkalamide als stärkere Basen als Ammoniak, wie die beiden folgenden Beobachtungen zeigen. Zu Cyanamid **7** in 12.5% Ausbeute führte gasförmiges Dicyan in Gegenwart von festem Natriumamid bei 205°C, wie Perret und Krawczynski [44b] 1932 beschrieben. Ähnlich erhielt bereits Cornell [44c] 1871 aus einer Lösung von Dicyan in kondensiertem Ammoniak, die er mit Kaliumamid versetzte das Kaliumsalz von Cyanamid **7** (Ausbeute unbestimmt). Aus Cyanamid **7** erhielt Baumann [45] 1873 durch Hydratisieren in halbkonzentrierter Schwefelsäure in einer stark exothermen Reaktion Harnstoff **9** (Ausbeute unbestimmt) neben Dicyandiamid

(Cyanoguanidin)  $\text{H}_2\text{N}-\text{C}:\text{NH}-\text{NH}-\text{CN}$ . Hydroxidkatalysiert erhielt er nur das letzte Produkt. In einer wässrigen Ammoniumnitratlösung von **7** erhielten Blair und Braham [46] bei  $155^\circ\text{C}$  während 1h 81% Guanidin **8** als Nitratsalz.

Harnstoff **9** und Guanidin **8** sind konvertierbar. Bell [18] isolierte 1926 nach 190-tägigem Stehenlassen von freiem<sup>1</sup> Guanidin in wässriger Lösung bei Raumtemperatur Harnstoff in 71% Ausbeute. Blair [47] erhielt aus Harnstoff **9** in einer Ammoniakatmosphäre bei  $300^\circ\text{C}$  über 12h Guanidin **8** in 23% Ausbeute, neben 63% Ausgangsmaterial und 12% Kohlensäuremonoamid.

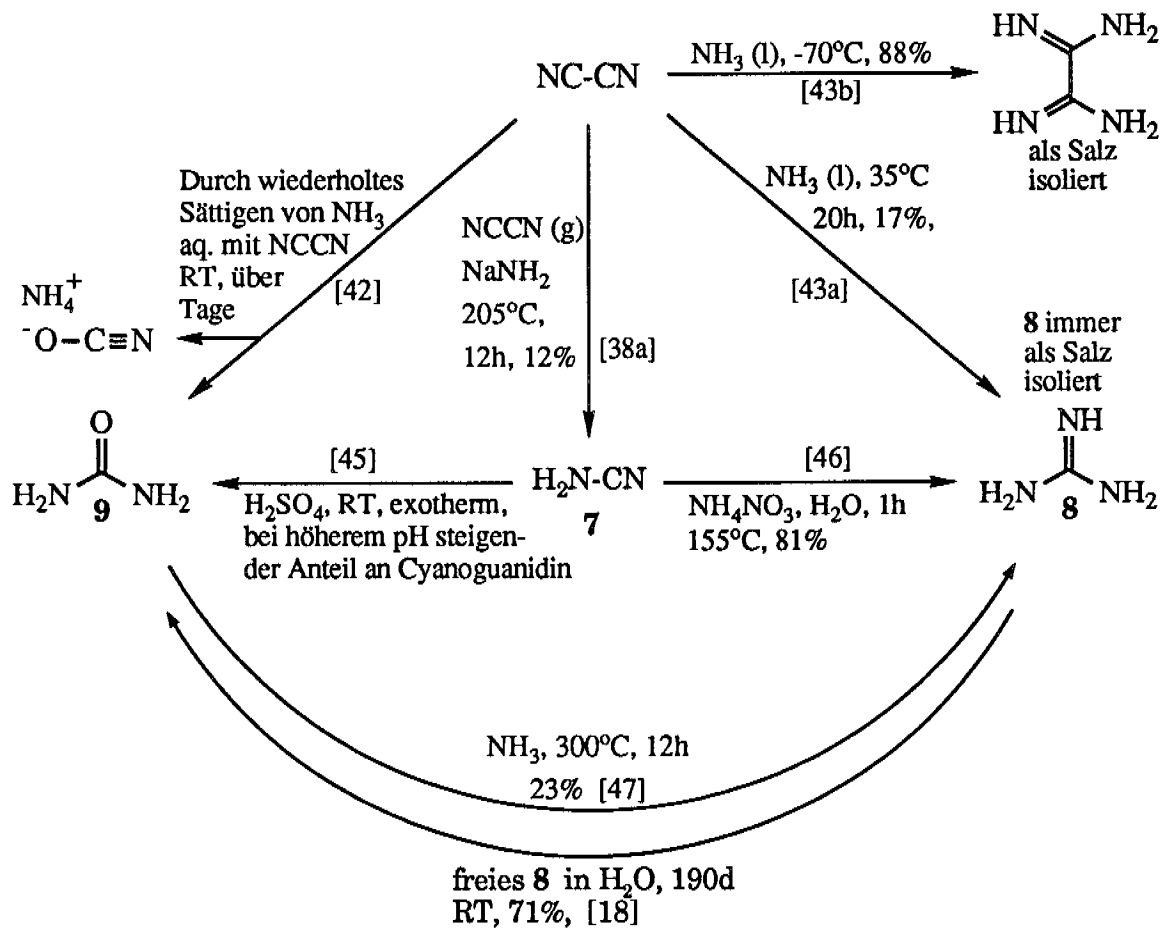


Abbildung 10: Dicyan: Seine Hydrolyse und Ammonolyse

<sup>1</sup>In situ freigesetzt aus einer Guanidiniumcarbonatlösung mit Bariumhydroxid und anschließendem Abfiltrieren von Bariumcarbonat

### 3. DIE ALDEHYDKATALYSIERTE HYDRATISIERUNG VON BLAUSAEUREOLIGOMEREN

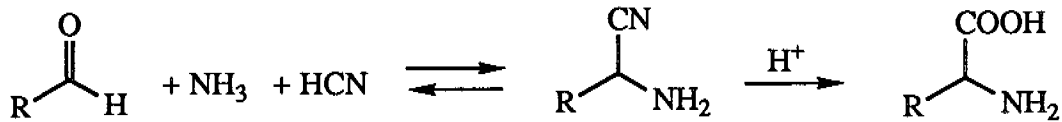
#### 3.1. Literaturübersicht zur aldehyd- und ketonkatalysierten Hydratisierung von $\alpha$ - und $\beta$ -Aminonitrilen

Bei der klassischen Synthese von racemischen  $\alpha$ -Aminosäuren nach Strecker [48] aus Aldehyden, Ammoniak und Cyanwasserstoff wird das Zwischenprodukt, das  $\alpha$ -Aminonitril normalerweise nicht isoliert, sondern direkt in konzentrierter Säure weiter hydrolysiert, um das Gleichgewicht auf Seiten des  $\alpha$ -Aminonitrils zu halten. Wird von isolierten  $\alpha$ -Aminonitrilen ausgegangen, wird zur Hydrolyse aus den gleichen Gründen auch konzentrierte Säure verwendet [49]. Commeyras und Mitarbeiter [50] beobachteten 1977 bei Versuchen, eine mildere Hydrolysemethode in neutralem bis leicht basischen Milieu zu finden, dass aus  $\alpha$ -Aminopropionitril neben dem Amid auch Acetaldehyd entstand. Eine kinetische Betrachtung zeigte einen Einfluss der Konzentration dieses Aldehyds auf die Geschwindigkeit der Hydratisierung. Auch konnte eine Zugabe von externem Aceton die Reaktion beschleunigen, zwar nicht um den Faktor wie Acetaldehyd, dafür aber selektiver.

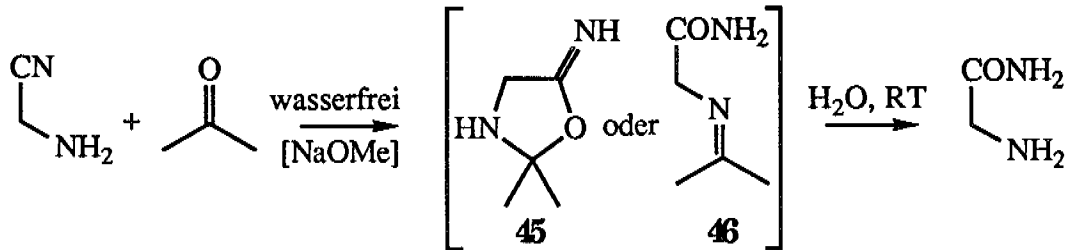
Die Erklärung dieser experimentellen Ergebnisse gelang mit Hilfe von Beobachtungen, die Davis und Levy [51] 1951 mit  $\alpha$ -Aminoacetonitril und anderen  $\alpha$ -Aminonitrilen in wasserfreiem Aceton gemacht hatten. Dabei war ein - alkoholatkatalysiert entstandenes - Addukt isoliert und kristallisiert worden, wobei die Autoren sich mangels physikalischer Daten nicht definitiv für eine der beiden isomeren Strukturen Iminoxazolidin **45** oder Acetimin **46** (Abb. 11) entschieden. Bei der Hydrolyse des Adduktes erhielten sie  $\alpha$ -Aminoacetamid.

Commeyras und Mitarbeiter konnten mit Hilfe des  $^1\text{NMR}$ -Spektrums des, nach der Methode von Davis und Levy wasserfrei synthetisierten, Adduktes von  $\alpha$ -Aminopropionitril mit Aceton die Struktur des Acetamins **47** (Abb. 11) belegen. Weiter konnten sie das alternative Iminoxazolidin **48** (**45** entsprechend) und das erhaltene Produkt Acetimin **47** leicht als Zwischenstufen in die mechanistische Interpretation des Katalysemechanismus' mit Aceton bei der Hydratisierung von  $\alpha$ -Aminopropionitril einfügen.

## Strecker 1850 [48]



## Davis, Levy 1951 [51]



## Commeyras und Mitarbeiter 1977 [50]

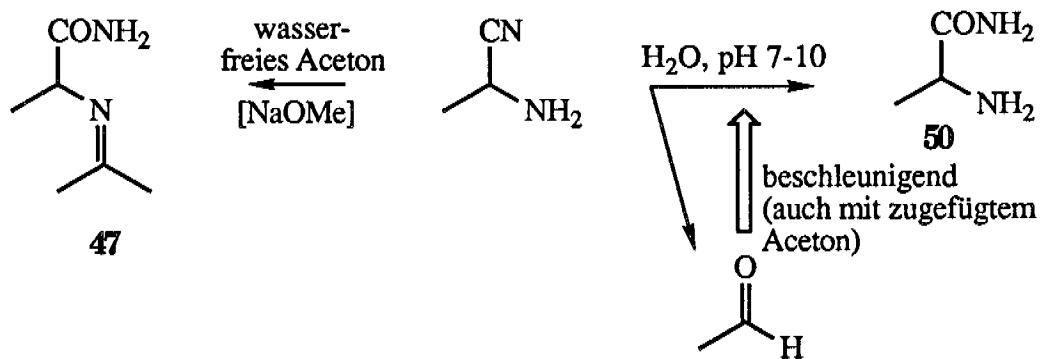


Abbildung 11: Zur aldehyd- und ketonkatalysierten Hydratisierung von  $\alpha$ -Aminonitrilen

Der mechanistische Ablauf (Abb. 12) nach Commeyras und Mitarbeitern [50] beginnt mit dem nukleophilen Angriff der  $\alpha$ -Aminogruppe auf den Aldehyd oder das Keton. Das nach Deprotonierung am Stickstoff entstehende N-O-Hemiacetal **49** greift wahrscheinlich mit der - dazu im Gleichgewicht stehenden - am Sauerstoff deprotonierten Form intramolekular das günstig gelegene Nitril an, um das Iminooxazolidin **48** zu bilden, entsprechend dem Alternativprodukt **45** (Abb. 11) von Davis und Levy [51]. **48** lagert zum stabileren Imin-Amid **47** um, das unter wasserfreien Bedingungen isoliert wurde (Abb. 11). Dieses Imin regeneriert bei der Hydrolyse wiederum den katalysierenden Aldehyd oder das Keton und liefert das  $\alpha$ -Aminocarbonsäureamid **50**.

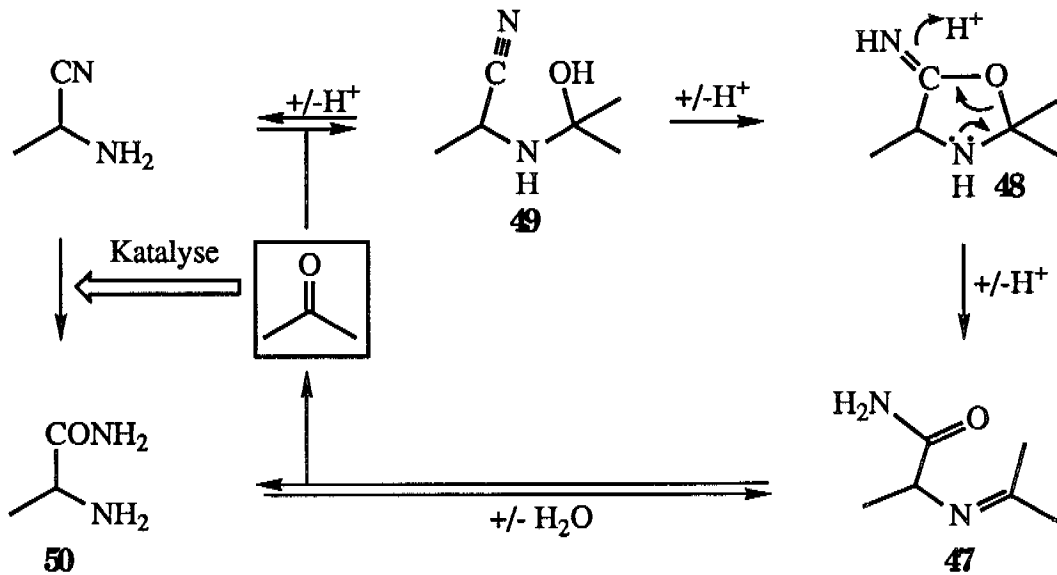


Abbildung 12: Von Commeyras und Mitarbeitern [50] vorgeschlagener Mechanismus zur aldehyd- (keton-) katalysierten Hydratisierung von  $\alpha$ -Aminonitrilen

Edward und Chubb [52] betrachteten 1983 die acetonkatalysierte Hydratisierung bei einem  $\beta$ -Aminonitril, dem *o*-Anthranilonitril **51** (Abb. 13). Sie fanden einen Beschleunigungsfaktor 5000, bei den  $\alpha$ -Aminonitrilen wurden  $10^8$  veranschlagt. Sie führten diese Verminderung bei  $\beta$ -Aminonitrilen auf eine ungünstigere Geometrie beim Ringschluss [53] oder den nitrilstabilisierenden Effekt der in Konjugation stehenden  $\beta$ -Aminogruppe zurück.

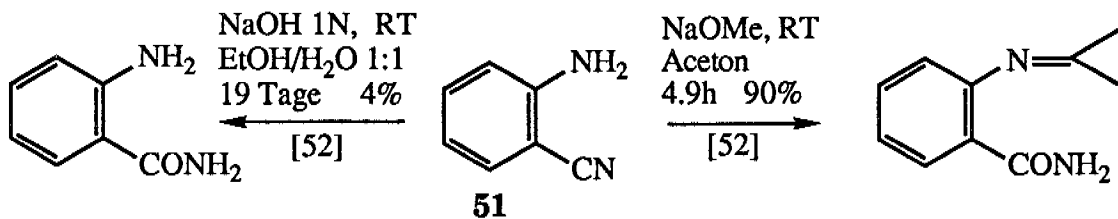


Abbildung 13: Acetonkatalysierte Hydratisierung am Beispiel eines  $\beta$ -Aminonitrils; an *o*-Anthranilonitril **51** nach [52]

### 3.2. Die aldehydkatalysierte Hydratisierung des Blausäuretrimeren Aminomalonsäuredinitril

Die potentielle Bedeutung der aldehyd- oder ketonkatalysierten Hydratisierung von  $\alpha$ -Aminonitrilen für die präbiotische Chemie wurde bereits von Edward und Chubb [52] erkannt. Sie bezogen sich allerdings auf die Miller'sche [4] Synthese von  $\alpha$ -Aminosäuren. Diese ist im Kern eine Strecker'sche [48], entstehen doch unter jenen Reaktionsbedingungen Cyanwasserstoff und Aldehyd, die zusammen mit dem vorhandenen Ammoniak die Edukte zur reversiblen Bildung von  $\alpha$ -Aminonitrilen darstellen. Gleichzeitig könnten die Aldehyde den ersten, irreversiblen Hydrolyseschritt zum  $\alpha$ -Aminoamid katalysieren. Zwar sind zu dessen Hydrolyse wieder drastischere Bedingungen nötig, aber die Gefahr einer Spaltung in Aldehyd und Formamid analog zur Retro-Strecker-Reaktion besteht nicht mehr.

Wie aus den Abb. 3 (vgl. S. 19) und Abb. 9 (vgl. S. 30) hervorgeht sind viele andere zulässige Ausgangsstoffe und Produkte der präbiotischen Chemie  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Aminonitrile. Die in dieser Arbeit speziell interessierenden HCN-Oligomeren (vgl. Abb. 9, S. 30) sind - aldehydkatalysiert zum Amid hydratisiert - potentielle Edukte von natürlichen Kofaktorstrukturen, wie aus den Abbildungen 4 und 5 (vgl. S. 21 und 22) hervorgeht.

Beim HCN-Trimeren Aminomalonsäuredinitril **2** stellten wir mit mehreren Aldehyden eine Beschleunigung der Hydratisierung zu Aminomalonsäurenitrilamid **52** fest (vgl. Abb. 14 und Tab. 1).

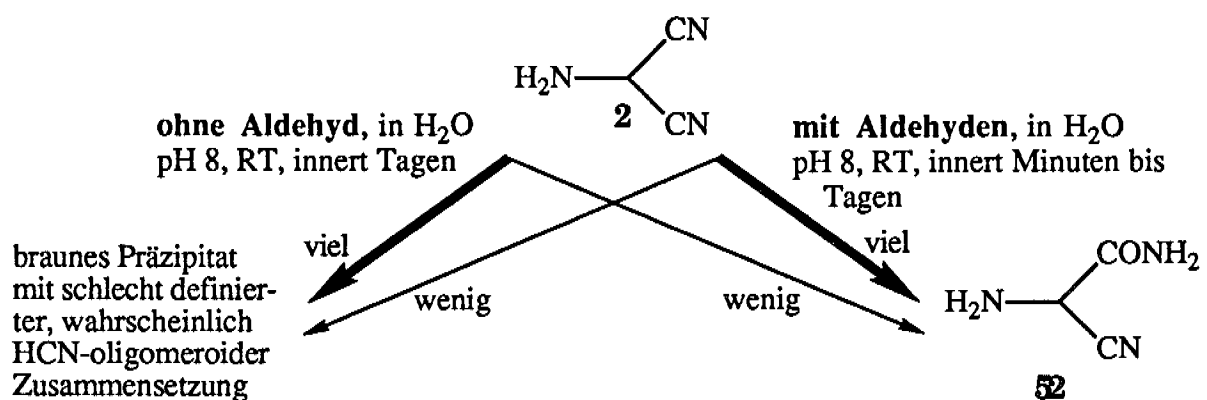


Abbildung 14: Zusammenfassung von Ergebnissen aus Tabelle 1



Nr.	pH	Konz. HCN-Trimer	Aldehyd oder Keton	Konz. Aldehyd od. Keton	Zeit in h	Analyse	Ergebnis, Ausbeute an <b>52</b> (falls isoliert)
1	5.5	0.1M	---	0	60	DC	<b>2</b> , braunes Präzipitat und Spuren von <b>52</b>
2	8.0	17mM	---	0	24	DC	<b>2</b> , braunes Präzipitat und Spuren von <b>52</b>
3	5.5	0.1M	Aceton	3.5M	60	DC	<b>52</b> , nur noch Spuren von Edukt
4	5.5	0.1M	Glykolaldehydphosphat	4mM	60	DC isoliert <sup>1</sup> H-NMR	5% <b>52</b> isol., Präzipitat und nach DC noch wenig <b>2</b>
5	8.0	17mM	Glykolaldehydphosphat	0.5mM	22	DC	<b>52</b> , nur noch Spuren von Edukt
6	7.0	17mM	Glykolaldehydphosphat	2.5mM	22	DC isoliert <sup>1</sup> H-NMR	8% <b>52</b> isol., Präzipitat und nach DC noch wenig <b>2</b>
7	8.0	17mM	Glykolaldehyd	12mM	18	DC	Wenig <b>52</b> , sonst Zersetzung
8	9.0	17mM	Glykolaldehyd	12mM	18	DC	Wenig <b>52</b> , sonst Zersetzung
9	8.0	17mM	Dihydroxyaceton	12mM	18	DC	Wenig <b>52</b> , sonst Zersetzung
10	8.0	20mM	Formaldehyd	40mM	0.17	Diverse Methoden	42% <b>52</b> 20% <b>53</b> isoliert

Tabelle 1: Katalytische Wirkung von Aldehyden auf die Hydratisierung von Aminomalonsäuredinitril **2** in wässrigen Lösungen bei RT

Am effizientesten zur Bildung von **52** erwies sich Formaldehyd, wie die letzte Zeile in Tabelle 1 zeigt. Allerdings kamen auch die Aldolisierung und andere Sekundärreaktionen zum Zug und neben **52** wurden aus verschiedenen Experimenten auch die Folgeprodukte **53** - **55** (Abb. 15 und 16, sowie Tabelle 2) isoliert.

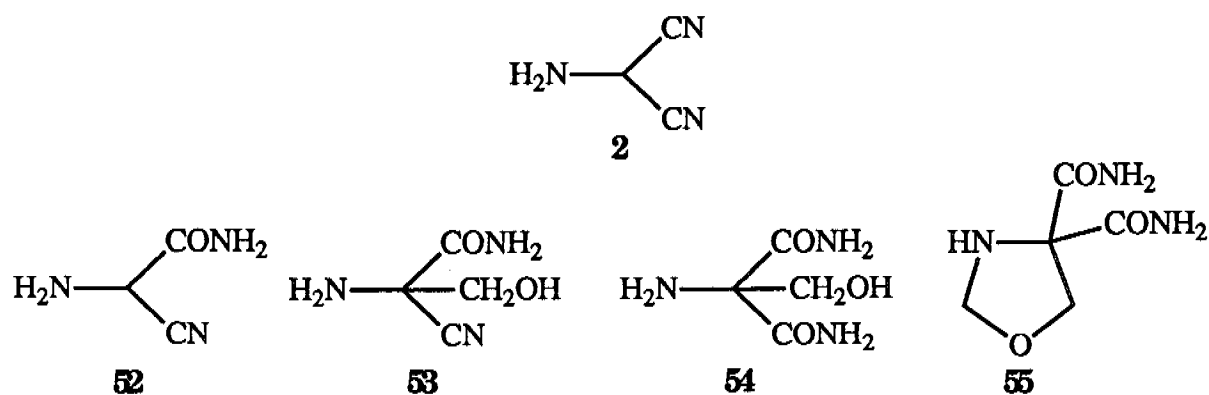


Abbildung 15: Produkte **52** -**55** aus wässrigen, formaldehydhaltigen Lösungen von **2** um neutral, beschrieben in Tabelle 2 und Abb.16.

Nr.	pH	T in °C	Konz. von <b>2</b> in mM	Konz. von CH <sub>2</sub> O in mM	Zeit in min	Isolierung und Analytik	Aus- beuten (falls isoliert)
1	5.5	23	20	40	120	DC bis <b>2</b> verschwunden Säulenchromatographie <sup>1</sup> H-NMR	ca. 8% <b>53</b> , Prä- zipitat
2	6.6	23	20	40	60	DC bis <b>2</b> verschwunden Säulenchromatographie <sup>1</sup> H-NMR	4% <b>52</b> 21% <b>53</b> , Prä- zipitat
3	7.0	23	20	40	40	DC bis <b>2</b> verschwunden	
4 vgl. Abb. 16	8.0	23	20	40	10	nach 10min Zugabe von NaBH <sub>4</sub> um Formaldehyd zu zerstören, dann Säulen- chromatographie, <sup>1</sup> H-NMR	42% <b>52</b> 20% <b>53</b>
5	8.0	23	20	40	30	nach 30min Zugabe von NaBH <sub>4</sub> um Formaldehyd zu zerstören, dann Säulen- chromatographie, <sup>1</sup> H-NMR	18% <b>52</b> 33% <b>53</b>
6	8.0	0	20	40	240	DC bis <b>2</b> verschwunden Säulenchromatographie <sup>1</sup> H-NMR	4% <b>52</b> 40% <b>53</b> , Prä- zipitat
7	8.0	35	20	40	7	nach 7min Zugabe von NaBH <sub>4</sub> um Formaldehyd zu zerstören, dann Säulen- chromatographie, <sup>1</sup> H-NMR	8% <b>52</b> 32% <b>53</b> , Prä- zipitat

8 vgl. Abb. 16	8.0	23	20	22	90	DC bis 2 verschwunden Säulenchromatographie kristallisiert, <sup>1</sup> H-NMR	36% <b>53</b> 7% <b>54</b>
9 vgl. Abb. 16	8.0	23	12	38	960	DC bis 2 verschwunden Säulenchromatographie kristallisiert, <sup>1</sup> H-NMR	72% <b>55</b>

Tabelle 2: Versuche zur Reaktion von **2** in wässrigen, formaldehydhaltigen Lösungen.

Um die Bildung des Monoamides **52** zu beweisen, sowie um die bis anhin in der Literatur nicht beschriebenen Produkte **53** - **55** zu charakterisieren, suchten wir Bedingungen, bei denen **52** - **55** in grösster Ausbeute und Reinheit isoliert werden konnten. Die optimierten Bedingungen für die Bildung von Aminomalonsäurenitrilamid **52** (vgl. Tabelle 2, Versuch 4 oder Abb. 16, oben) waren eine 0.02M Lösung von Aminomalonsäuredinitril **2**, Raumtemperatur (23°C), pH 8.0 (Phosphatpuffer) und eine Reaktionsdauer von exakt 10 Minuten. Die Lösung war 0.04M an Formaldehyd, das nach 10 Minuten durch Zugabe von 4 Äquivalenten Natriumborhydrid zerstört wurde, um die weiterführende Aldolisierung zu **53** zu verhindern. Die Isolierung von **52** und **53** aus der Pufferlösung war wegen ihrer Polarität nicht sehr einfach. Sie gelang, indem die Lösung konzentriert, lyophilisiert und das entstandene Pulver mit Kieselgel vermischt und schliesslich mit Flash-Chromatographie [54] eluiert wurde. Allerdings gelang damit die Trennung von **52** und **53** nicht, haben sie doch beinahe denselben R<sub>F</sub>-Wert<sup>1</sup>. Das aus den relevanten Chromatografiefraktionen gewonnene Gemisch enthielt nach Einwaage und Integration der Signale im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum **52** in 42% und **53** in 20% Ausbeute bezüglich eingesetztem **2**. In wenig heissem Methanol gelöst, kristallisierte daraus beim Abkühlen Aminomalonsäurenitrilamid **52** in 27% Ausbeute.

In einer **Kontrollreaktion ohne Formaldehyd** ebenfalls bei pH 8 und Raumtemperatur wurde die wässrige Lösung von Aminomalonsäuredinitril **2** zwar nach zwei Stunden - wahrscheinlich wegen HCN-Polymeren - immer

---

<sup>1</sup>DC: R<sub>F</sub>-Werte 0.20 für **52**, 0.19 für **53**, 0.05 für **54** und 0.29 für **55** (Kieselgel, 95% Ethylacetat, 2.5% Hexan, 2.5% Essigsäure, Ninhydrin-Detektion)

dunkler, aber im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum traten immer noch nur Signale (36.7 und 117.2ppm) von Aminomalonsäuredinitril **2** und insbesondere keine (49.7, 122.1 und 173.6ppm) von Aminomalonsäurenitrilamid **52** auf.

Wurden die Reaktionszeiten verlängert oder Formaldehyd nicht durch Natriumborhydrid entfernt, isolierte man steigende Anteile an Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53**. Um **53** als Vergleichsubstanz rein isolieren und charakterisieren zu können, setzten wir in der Reaktion nur 1.1 Äquivalente Formaldehyd ein (so konnte die Bildung von **55** als Nebenprodukt verhindert werden), liessen aber 90 Minuten bei pH 8 und Raumtemperatur reagieren. Neben Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** in 36% Ausbeute wurde dabei auch das Diamid **54** in 7% Ausbeute isoliert (vgl. Tabelle 2, Versuch 8 oder Abb. 16, zweite Linie). Die beiden konnten analog wie oben durch Flash-Chromatographie dieses Mal gut getrennt<sup>1</sup> und aus Ethanol (**53**), respektive Acetonitril (**54**) kristallisiert werden.

Bei genügenden Überschüssen an Formaldehyd und noch längerer Reaktionsdauer wurde nach DC im Gemisch ein neues unpolareres<sup>1</sup> Produkt gebildet. Nach 16h war es gemäss DC neben einem Startfleck (Zersetzungsprodukt) das einzige Produkt in einer Lösung von Aminomalonsäuredinitril **2** mit 3 Äquivalenten Formaldehyd bei pH 8 und Raumtemperatur (vgl. Tabelle 2, Versuch 9, Abb. 16, dritte Linie). Es wurde als 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** charakterisiert. Um **55** aus der wässrigen Pufferlösung zu isolieren, wurde sie wie oben beschrieben lyophilisiert und das erhaltene gelbe Pulver durch Flash-Chromatographie eluiert. **55** konnte aus Acetonitril kristallisiert werden.

---

<sup>1</sup>Vergleiche  $R_f$ -Werte in der Fussnote auf der vorangehenden Seite

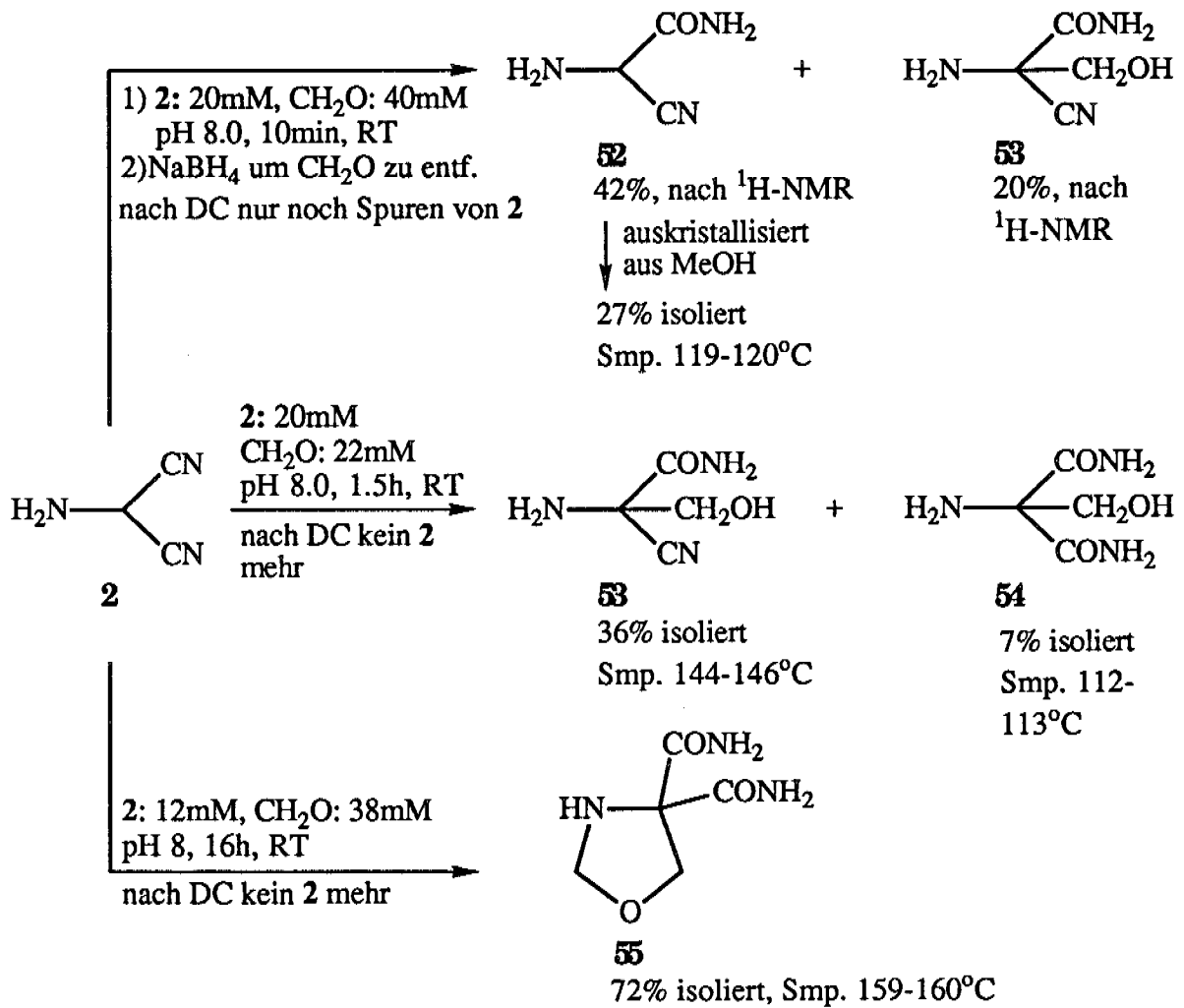


Abbildung 16: Optimierte Bedingungen zur Identifizierung und Charakterisierung des Monoamides **52** und der Folgeprodukte **53** - **55** aus formaldehydhaltigen, wässrigen Lösungen von Aminomalonsäuredinitril **2** bei pH 8

Für die Analyse der Reaktionsprodukte stand das Aminomalonsäurenitrilamid **52** aus einer unabhängigen Synthese<sup>1</sup> zur Verfügung. Für die Produkte **53** - **55** ist unseres Wissens noch kein anderer Zugang beschrieben, so dass sie erstmals charakterisiert werden mussten. In den Versuchen, bei denen die Hydratisierung formaldehydkatalysiert verlief, wurde bei der Flash-Chromatographie Aminomalonsäurenitrilamid **52** immer zusammen mit Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** erhalten. Die braune, harzartige Masse wurde durch Integrieren der Signale im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum analysiert. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in der folgenden Abbildung 17 stammt von so isolierten Produkten des Versuches 5 in Tabelle 2.

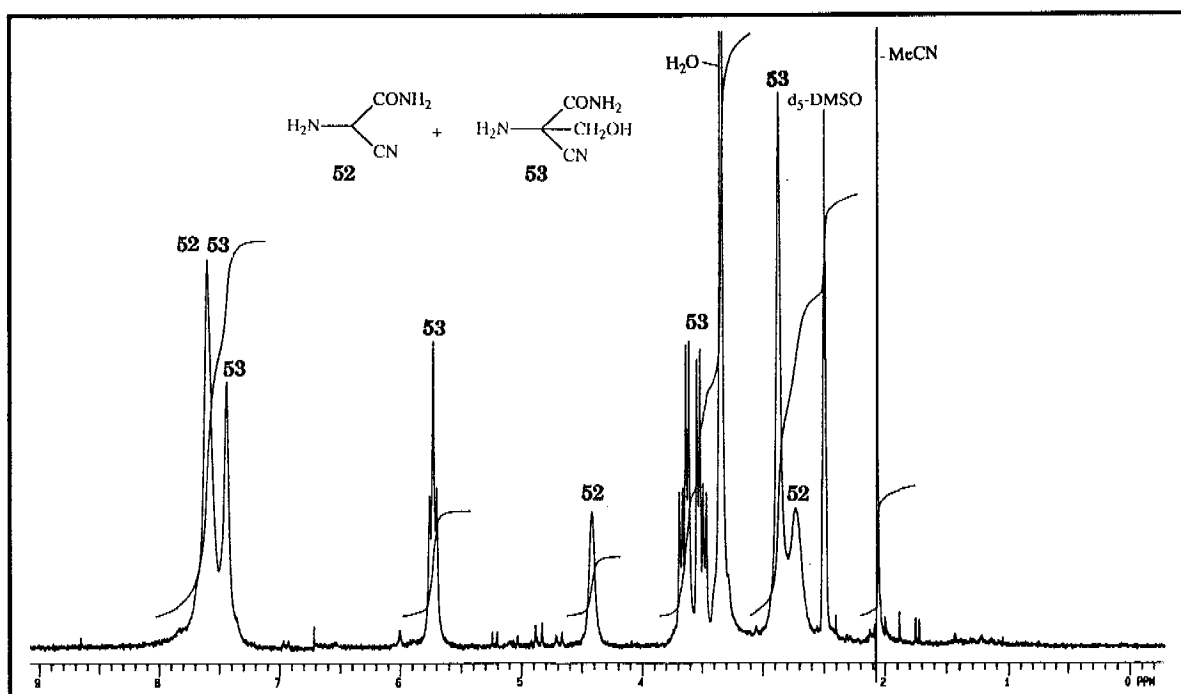


Abbildung 17: 200MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum eines Gemisches von Aminomalonsäurenitrilamid **52** und Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53**, isoliert beim Versuch 5 in Tabelle 2, aufgenommen in *d*<sub>6</sub>-DMSO

<sup>1</sup>Aus Malonsäurenitrilmethylester durch Nitrosierung [55], Reduktion [56] und schliesslich Ammonolyse [56]. Gegen Ende der Arbeit war **52** von der Firma Merck kommerziell erhältlich.

Diese Gemische von Aminomalonsäurenitrilamid **52** und Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** konnten in wenig heissem Methanol gelöst werden, woraus beim Abkühlen bis  $-20^{\circ}\text{C}$  **52** auskristallisierte, wenn sein Anteil nicht allzu gering war. Abb. 18 zeigt das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des so gewonnenen, reinen Monoamids **52** aus Versuch 4, Tabelle 2, der auch in Abb. 16, obere Linie beschrieben ist. Das so gewonnene Produkt ist ausserdem gemäss folgenden analytischen Methoden identisch mit dem authentischen: Schmelzpunkt (nach einmal Umkristallisieren  $119\text{-}120^{\circ}\text{C}$ ), FAB-MS, DC,  $^{13}\text{C}$ -NMR und IR (Nitrilbande bei  $2244\text{cm}^{-1}$  und Carbamoylbanden bei  $1665$  und  $1607\text{cm}^{-1}$ ).

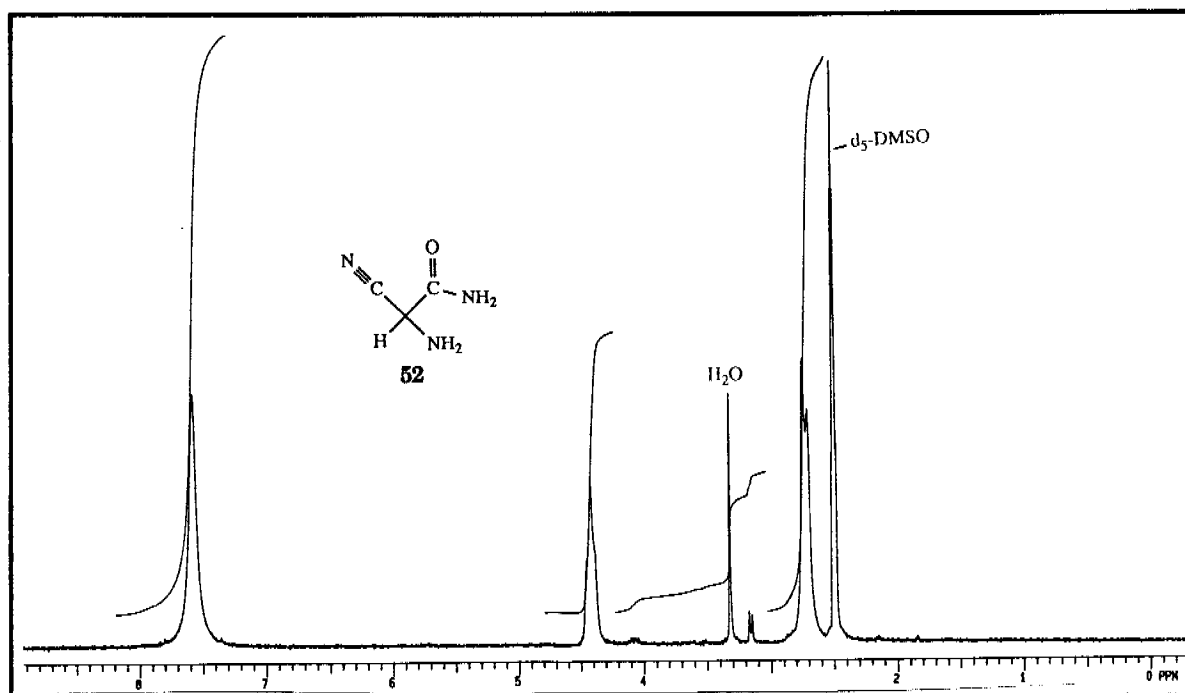


Abbildung 18: 200MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Aminomalonsäurenitrilamid **52**, gewonnen durch Auskristallisieren aus dem methanolischen Gemisch **52/53**, aufgenommen in  $\text{d}_5\text{-DMSO}$

Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** wurde zu Vergleichszwecken aus einem anderen Versuch (vgl. Tabelle 2, Versuch 8 oder Abb. 16, mittlere Linie) durch Chromatographie isoliert und kristallisiert. Sein in  $d_6$ -DMSO aufgenommenes  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (vgl. Abb. 19) zeigt neben Lösungsmittelsignalen zwei Peaks der Amidprotonen bei 7.62 und 7.44ppm, das Hydroxyproton als Triplet bei 5.73ppm, die diastereotopen Protonen der Methylengruppe je als Dublett x Dublett bei 3.66 und 3.51ppm, sowie die zwei Protonen der Aminogruppe als breites Singulett bei 2.89ppm.

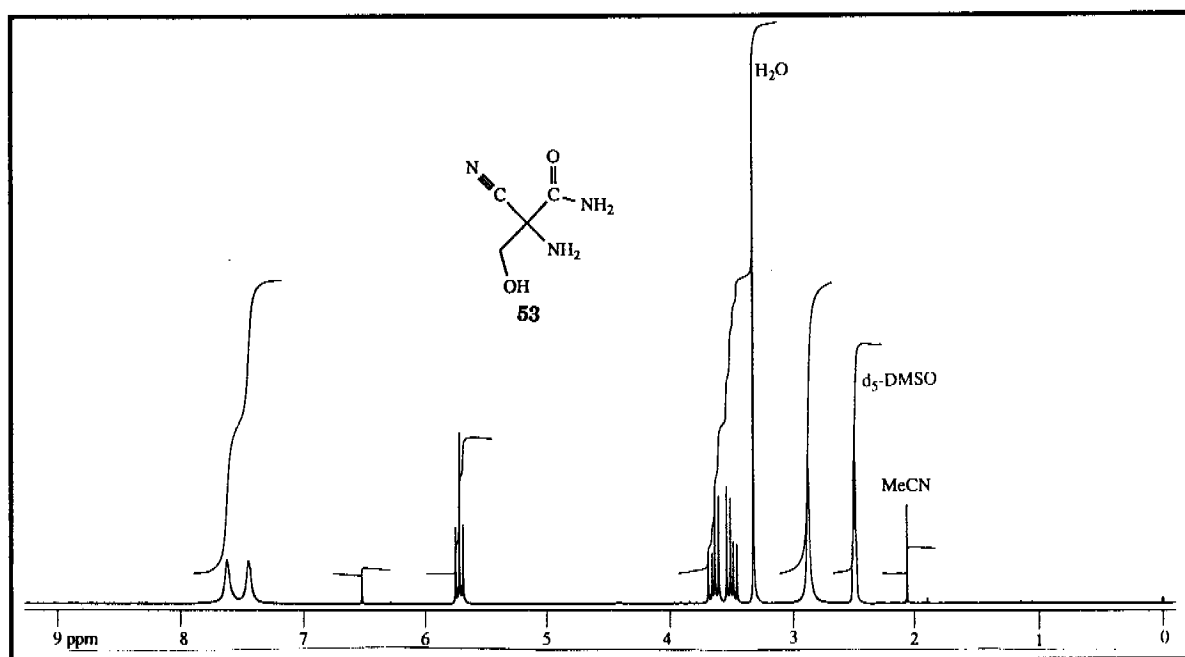


Abbildung 19: 200MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** aus Versuch 8, Tabelle 2 (Abb. 16, mittlere Linie), aufgenommen in  $d_6$ -DMSO

Die Ergebnisse weiterer analytischer Methoden sind in Übereinstimmung mit dieser Struktur. Im positiv-FAB-MS-Spektrum erreicht der Peak bei 130 ( $M_r = 129.13$ ) 98% der Intensität des Basispeaks, der von der Glycerinmatrix stammt. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum, das auch in  $d_6$ -DMSO aufgenommen wurde, treten neben den Lösungsmittelsignalen vier Peaks bei 61.0, 66.4, 120.9 und 169.0ppm auf. Das IR-Spektrum (KBr) enthält neben einer Nitrilbande bei  $2240\text{cm}^{-1}$  auch Carbonylbanden bei  $1685$  und  $1596\text{cm}^{-1}$ .



Beim gleichen Versuch (vgl. Tabelle 2, Versuch 8 oder Abb. 16, mittlere Linie) wurde auch das Diamid **54** durch Chromatographie isoliert und kristallisiert. Dessen  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ( $d_6$ -DMSO, Abb. 20) enthält neben Lösungsmittelsignalen die breiten Peaks von je zwei Amidprotonen bei 7.37 und 7.48ppm, das Dublett des Hydroxyprotons bei 5.10ppm, dasjenige der Methylengruppe bei 3.62ppm und schliesslich das breite Singulett der Aminogruppe bei 2.25ppm.

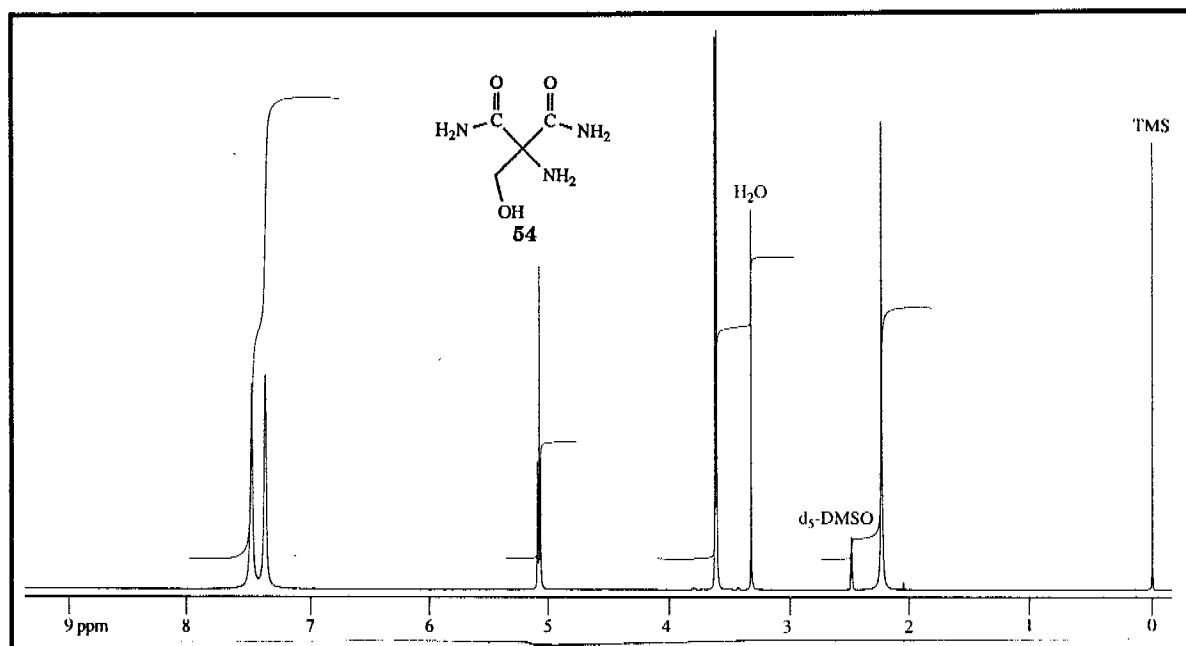


Abbildung 20: 400MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54**, aufgenommen in  $d_6$ -DMSO

Im IR-Spektrum (KBr) von **54** sind keine Nitrilbanden zu finden aber solche, die zu Carbamoylgruppen gehören bei 1696 bis  $1623\text{cm}^{-1}$ . Das positiv-FAB-MS-Spektrum hat als Basispeak 148.1 ( $M_r = 147.15$ ). Im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum treten neben Signalen des Lösungsmittels ( $d_6$ -DMSO) Peaks bei 66.5, 67.0 und 172.8ppm auf.

Bei Bedingungen gemäss Tabelle 2, Versuch 9 (oder Abb. 16, dritte Zeile) entstand 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55**. Es wurde durch Chromatographie isoliert und aus MeCN kristallisiert. Sein  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ( $d_6$ -DMSO, Abb. 21) enthält ausser Lösungsmittelsignalen Peaks von je zwei Amidprotonen bei 7.59 und 7.51 ppm, ein Dublett der Protonen der N,O-gebundenen 2-Methylengruppe bei 4.29 ppm, ein Triplett des Aminoprotons bei 4.01 ppm und ein scharfes Singulett der 4-Methylengruppe bei 3.80 ppm.

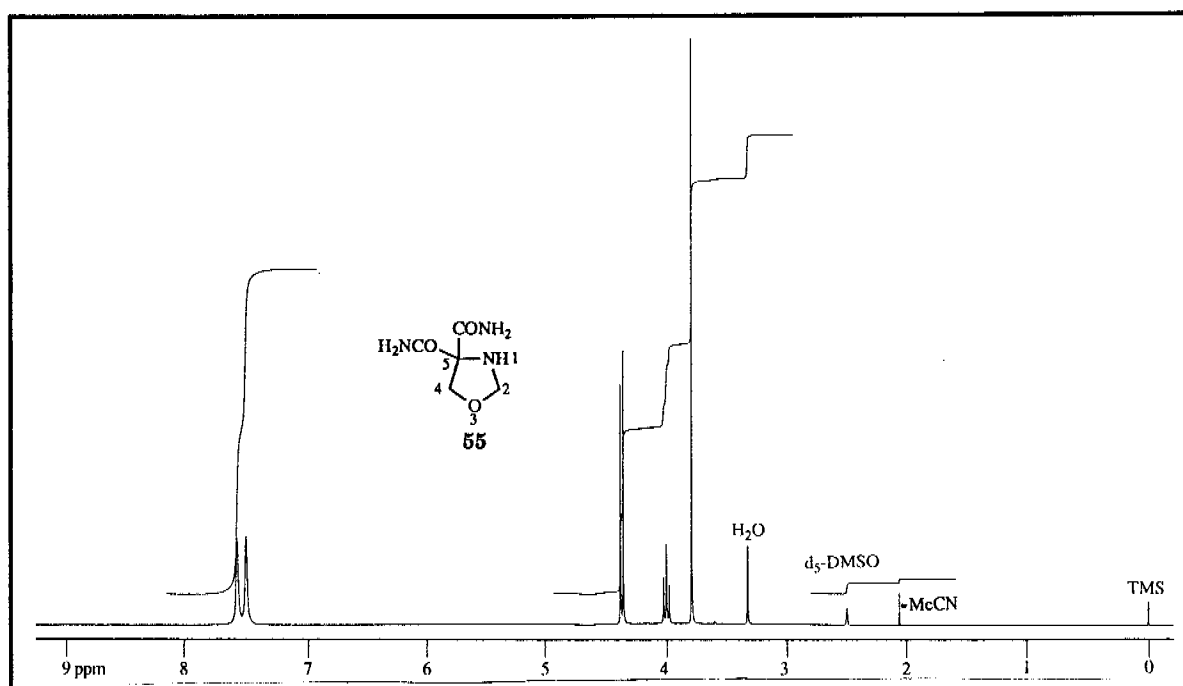


Abbildung 21: 400MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** in  $d_6$ -DMSO

Die Ergebnisse von anderen analytischen Methoden stehen mit der Struktur in Übereinstimmung. Im EI-MS-Spektrum ist kein Molekülpeak zu finden, aber der Peak bei 160 ( $M_r = 159.06$ ) erreicht 0.5% der Intensität des Basispeaks. Dieser ist bei 115, was durch Verlust einer Carbamoylgruppe aus dem Molekulation erklärt werden kann. Die Elementaranalyse für C, H und N ergab korrekte Werte. Das  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum enthält neben Lösungsmittelsignalen ( $d_6$ -DMSO) vier Peaks bei 71.9, 72.3, 81.7 und 171.5 ppm. Im IR-Spektrum, das in KBr aufgenommen wurde, fehlen Nitrilbanden. Es treten aber solche von Carbamoylgruppen bei 1696 bis 1606  $\text{cm}^{-1}$  auf.

Formal lässt sich aus **53** - **55** durch Hydrolyse und Decarboxylierung DL-Serin **56** ableiten. Für 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** wurde dies, wie Abb. 22 zeigt, experimentell geprüft und bestätigt. Während 7 Tagen bei Raumtemperatur in Natronlauge 2M stehengelassen, mit Kationentauscher entsalzt und zum Kristallisieren erwärmt<sup>1</sup>, entstand in 80% Ausbeute DL-Serin **56**.

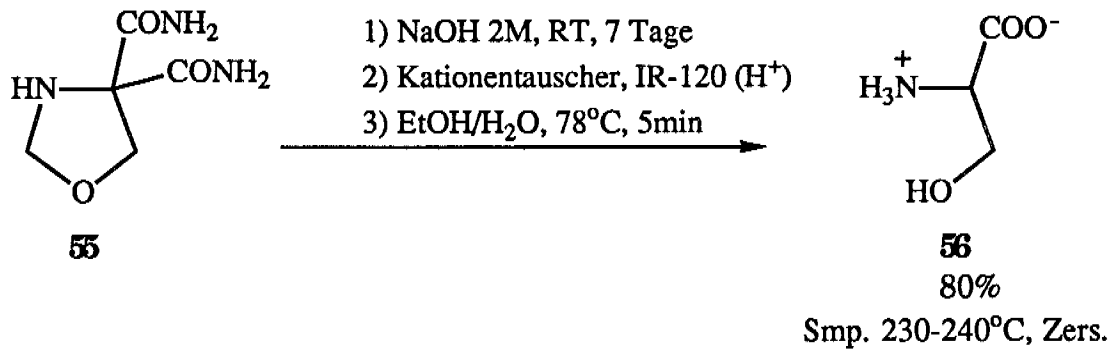


Abbildung 22: Bildung von DL-Serin **56** aus 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55**

<sup>1</sup>Zur vollständigen Decarboxylierung

Dieser Bildungsweg liesse sich analog für DL-Threonin aus Aminomalonsäuredinitril **2** und Acetaldehyd denken. Dabei entstünde aber auch diastereomeres DL-Isothreonin. Es wurden Vorversuche zur Bildung des zu **55** analogen 5,5-Dicarbamoyl-2,4-dimethyloxazolidins **57** unternommen. Nach 55h entstand bei Raumtemperatur in einer wässrigen Lösung von Aminomalonsäuredinitril **2** bei pH 8 mit 6 Äquivalenten Acetaldehyd gemäss DC ( $R_f$  0.34, Kieselgel, 95% Ethylacetat, 2.5% Hexan, 2.5% Essigsäure, Ninhydrin-Detektion) ein einziges Produkt neben viel Zersetzungsprodukt (als Startfleck). Das Produkt wurde durch Lyophilisieren der Lösung und Flash-Chromatographie isoliert. Nach  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bildete sich das Gemisch beider möglichen Diastereomeren von 5,5-Dicarbamoyl-2,4-dimethyloxazolidin **57** in 35% Ausbeute, wobei eines - unbestimmter Konfiguration - im Verhältnis 9:1 überwog. Sie konnten durch Chromatographie oder Kristallisation nicht getrennt werden. Die Vorversuche zur hydroxidkatalysierten Hydrolyse dieses Oxazolidingemisches analog wie bei **55** (vgl. Abb. 22) ergaben vorerst keinen Erfolg, insofern kein DL-Threonin nachgewiesen werden konnte.

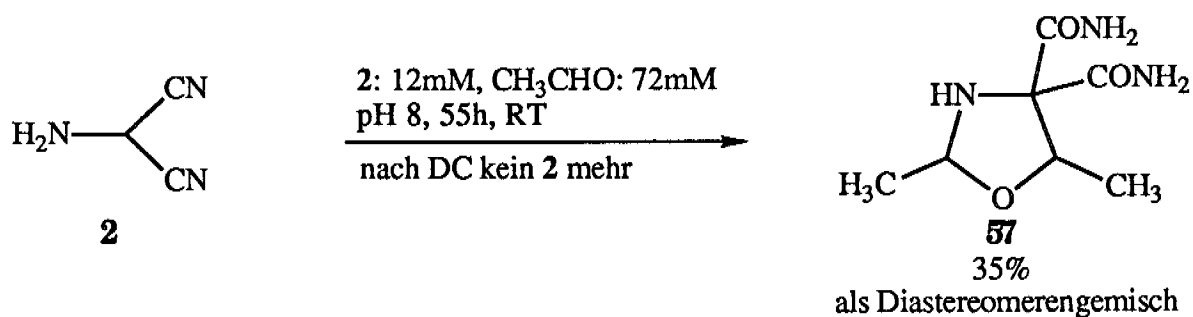


Abbildung 23: Bildung von 5,5-Dicarbamoyl-2,4-dimethyloxazolidin **57** aus Aminomalonsäuredinitril **2**

### 3.3. Die aldehydkatalysierte Hydratisierung des Blausäuretetrameren Diaminomaleinsäuredinitril

Sanchez, Ferris und Orgel [24] untersuchten die Hydrolyse des HCN-Tetrameren Diaminomaleinsäuredinitril **3** in verdünnten Lösungen. Sie arbeiteten bei Temperaturen zwischen 30 und 100°C im pH-Bereich 7 - 11 und beobachteten eine vollständige Hydrolyse von **3** mit Verschwinden der zugehörigen UV-Absorptionen ohne Auftreten von neuen. Daraus schlossen sie, dass Amid-Folgeprodukte von **3** entweder kurzlebige Zwischenstufen bei der Hydrolyse sind, oder aber dabei gar keine Rolle spielen. Die hydrolytische Zersetzung wurde durch verschiedene Amine und Anionen katalysiert. Eine Extrapolation zur Ionenstärke 0 deutete darauf hin, dass die Geschwindigkeit der spontanen Hydrolyse in Wasser sehr klein ist.

Während 16 Tagen bei 100°C in wässrigem Ammoniak 1M [24] ergab Diaminomaleinsäuredinitril **3** nach Papierchromatographie Glycin, Glycinamid, Alanin, Asparaginsäure, Harnstoff **9** sowie Spuren anderer Aminosäuren.

Die eigenen Versuche konzentrierten sich auf die Möglichkeit einer aldehydkatalysierten Hydratisierung von Diaminomaleinsäuredinitril **3**. Potentiell hat das dabei entstehende Diaminomaleinsäurenitrilamid **58** die Möglichkeit [57] als Enaminnitril - analog wie **3** [6] - photochemisch zum korrespondierenden 5-Aminoimidazolcarbonsäureamid **24** umzulagern. Andererseits wäre das Monoamid **58** des HCN-Tetrameren wohl stabiler als dasjenige **52** des Trimeren. In Umsetzungen bei hohen Temperaturen - Pyrimidinsynthesen zum Beispiel - die die thermische Resistenz von **52** überfordern, könnte **58** formal in situ durch HCN-Elimination **52** liefern.

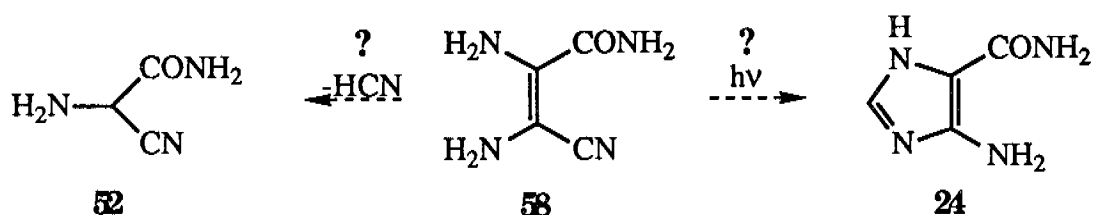


Abbildung 24: Das Monoamid **58** des HCN-Tetrameren und mögliche Derivate

Erste Hydratisierungsversuche mit Formaldehyd als Katalysator bei Raumtemperatur und pH 6 - 9 führten zu raschem Gelb- und Braunwerden der Lösungen, das heisst vermutlich zur Zersetzung des HCN-Tetrameren und anschliessender Oligomerisierung. Nach DC entstanden eine Vielzahl von

polarerer Produkten, deren Flecken zusammen eine UV-absorbierende Spur vom Startpunkt bis zum Edukt bildeten. Ein genauere Betrachtung der Reaktion wird später beschrieben (vgl. S. 55).

So wurde eine Hydratisierung, katalysiert mit dem weniger reaktiven Acetaldehyd, versucht (vgl. Abb. 25). Bei Raumtemperatur und pH 8.0 konnte tatsächlich nach einer knappen Stunde auf dem DC ein neues, UV-absorbierendes und polareres Produkt entdeckt werden. Ausserdem fiel beim Konzentrieren der Lösung ein zweites, unreines Produkt aus, das erst mit weiterführenden Experimenten - wie sie unten beschrieben werden - identifiziert werden konnte.

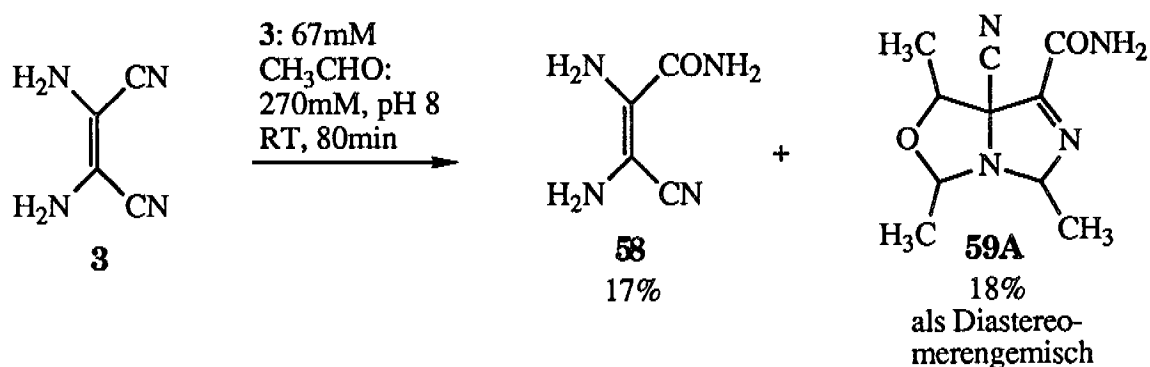


Abbildung 25: Acetaldehydkatalysierte Hydratisierung des HCN-Tetrameren Diaminomaleinsäuredinitrils **3** zu **58** mit Nebenprodukt **59A**

Die Lösung wurde lyophilisiert und nach der schon weiter oben beschriebenen Methode (vgl. S. 39) Flash-chromatographiert. Man erhielt dabei Diaminomaleinsäurenitrilamid **58** in 17% Ausbeute.

Das zuerst nur als komplexes Gemisch erkannte Nebenprodukt **59A** konnten wir erst identifizieren, als versucht wurde, die Ausbeute der in Abb. 20 dargestellten Reaktion durch pH-Variation zugunsten von **58** zu erhöhen. Bei pH 7.0 und ebenfalls Raumtemperatur erreichte man gerade das Umgekehrte. Ein Hauptbestandteil von **59A**, das einheitliche Diastereomer **59B**, fiel als weisses Pulver aus, nachdem sich das Diaminomaleinsäuredinitril **3** langsam aufgelöst hatte. Es konnte abfiltriert werden und kristallisierte als feine, weisse Plättchen nach Lösen in Methylenchlorid bei Raumtemperatur und anschliessendem Abkühlen bis -20°C. Beim Lösen in siedendem Methylenchlorid isomerisierte **59B** zum thermodynamisch stabilsten Diastereomer **59C** (vgl. Abb. 26).

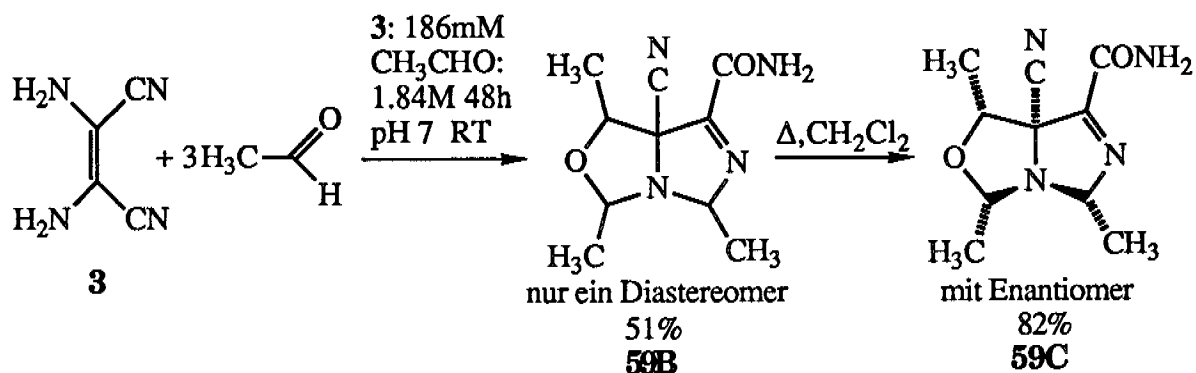


Abbildung 26: Bedingungen, die zu einem Ausfällen von **59B** führen und nachfolgende Isomerisierung in siedendem Methylenchlorid zum racemischen Enantiomergemisch **59C**

3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen **59B** mit unbekannter, aber einheitlicher Konfiguration der Methylgruppen scheint durch Weiterreaktion eines Zwischenproduktes der Hydratisierung mit Acetaldehyd zu entstehen (Abb. 27). Dadurch wird auch der postulierte Katalysemechanismus (vgl. Abb. 12, S. 35) gestützt.

Die Entstehung von **59B** und **59C** kann mit dem Reaktionsmechanismus in Abb.27 rationalisiert werden. Er beginnt mit der, auch im Katalysemechanismus postulierten Anlagerung von Acetaldehyd an eine Aminogruppe von Diaminomaleinsäuredinitril **3** und anschliessendem Angriff der deprotonierten Hydroxygruppe in **60** auf die benachbarte Nitrilgruppe. Intramolekulare Umlagerung mit Umprotonierung führt zum Imin **61**. Dieses kann bei katalytischer Hydratisierung durch Hydrolyse Acetaldehyd rezyklisieren und dabei das Monoamid **58** freisetzen, oder aber die zweite Aminogruppe kann intramolekular den Iminkohlenstoff nukleophil angreifen und zum Aminal **62** schliessen. **62** ist wohl nicht sehr stabil, sind doch die freien Elektronenpaare der beiden Aminogruppen durch die ringbedingte Geometrie teilweise aus der Konjugationsebene gedreht. Die fehlende Konjugation mit der Doppelbindung und vor allem den elektronenziehenden Cyano- respektive Carbamoyl-Substituenten erhöht allerdings die Basizität und Nukleophilie der beiden Aminogruppen, was eine Sequenz von stabilisierenden Reaktionen ermöglicht. So kann an der weniger desaktivierten, das heisst carbamoyl-konjugierten Aminogruppe ein weiteres Molekül Acetaldehyd anlagern, was zum Halbaminal **63** führt. Auch die zweite - cyano-konjugierte - Aminogruppe greift Acetaldehyd an, allerdings nicht direkt, sondern als Enamin mit dem Kohlenstoff in  $\gamma$ -Stellung, also zu **64** führend. Die alternati-

ve, direkte Reaktion hätte nach Wassereliminierung zum zuerst als Reaktionsprodukt vermuteten Aminogruppen-geschützten Diaminomaleinsäure-nitrilamid **65** geführt, das wohl

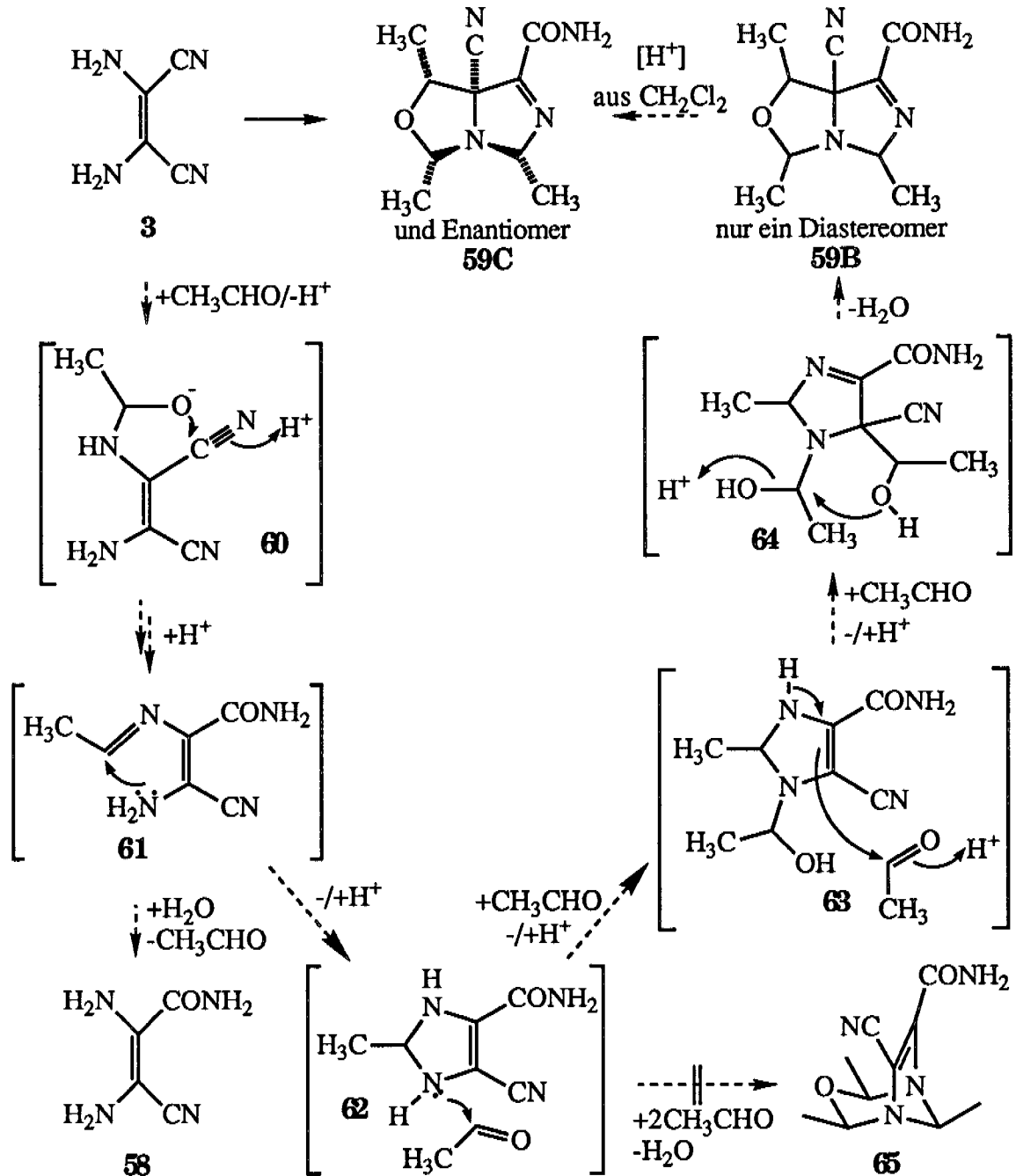


Abbildung 27: Postulierter Reaktionsmechanismus zur Bildung von **59C** aus dem HCN-Tetrameren **3** und Acetaldehyd

für die wegfallende  $\pi$ -Konjugation der freien Elektronenpaare in **3** zuwenig Stabilisierung durch  $\sigma$ -Konjugation mit den C-O Bindungen in **65** bieten kann. Das Hemiaminal **64** kann nun protonenkatalysiert - und hier zeigt



sich die Bedeutung des tieferen pH's als bei der einfachen Hydratisierung - Wasser eliminieren und zum Bicyklus **59B** schliessen. Da der Kohlenstoff der Hemiaminalgruppe eine (partiell) positive Ladung besser stabilisiert, wird er unter Anlagerung eines Protons an seine Hydroxygruppe durch die benachbarte Alkohol-Hydroxygruppe nukleophil angegriffen. **59B** isomerisiert in heissem Methylenchlorid -wahrscheinlich durch HCl-Spuren katalysiert - zum thermodynamisch stabilsten Diastereomer **59C**, das beim Abkühlen in langen Nadeln kristallisiert.

Da die spektroskopischen Daten nicht eindeutig waren, wurde wegen der anfänglichen Vermutung, es handle sich dabei um das Aminogruppen-geschützte Diaminomaleinsäurenitrilamid **65**, von Dr. B. Schweizer an der ETH eine Röntgenstrukturanalyse dieser Kristalle durchgeführt. Das Resultat war die Struktur rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen **59C** mit der Konfiguration 1SR, 4SR, 6RS, 8SR .

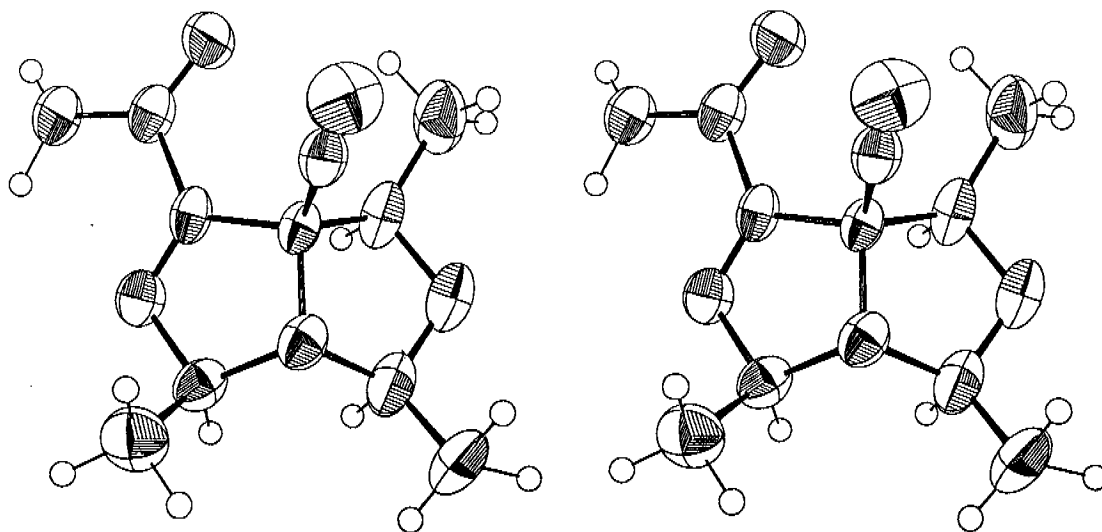


Abbildung 28: 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen 1R, 4R, 6S, 8R; ein Enantiomer von **59C** als Stereobild aus der Röntgenstrukturanalyse (ORTEP-Plot)

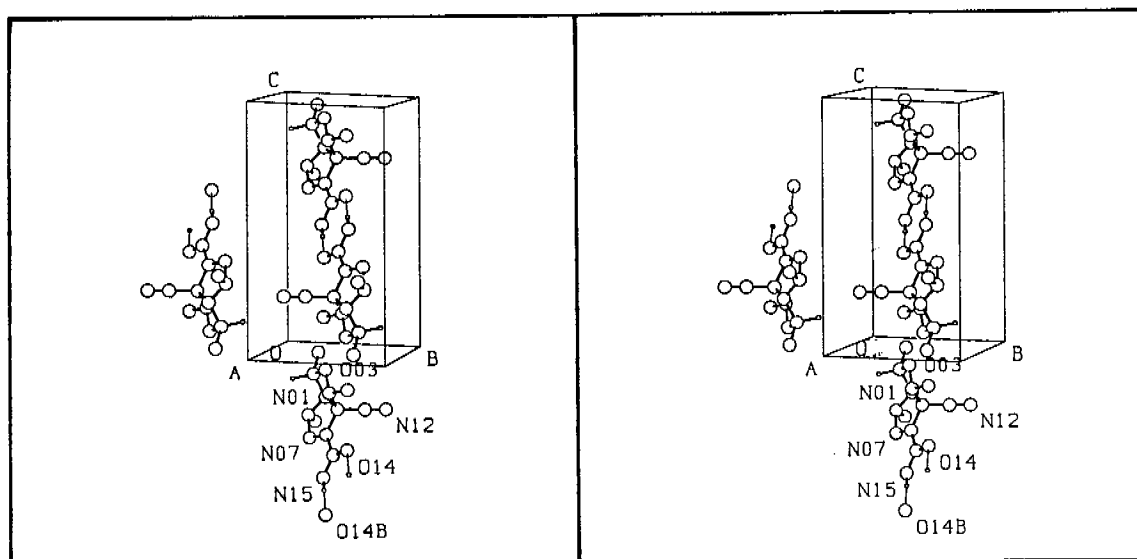


Abbildung 29: Eine Raumzelle im Kristall von **59C** mit einem Enantiomerenpaar von 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen 1SR, 4SR, 6RS, 8SR **59C**

Um die unterschiedlich verlaufende Reaktion mit Formaldehyd aufzuklären, wurden auch Versuche bei tieferem pH durchgeführt. Auf dem DC war bei  $\text{pH} < 6$  langsam in der Spur der entstehenden Produkte ein heraustretender Fleck eines Hauptproduktes sichtbar. Auch liess sich in den sauren Lösungen nicht so schnell Braunfärbung beobachten, was ebenfalls auf eine einheitlichere Reaktion hinwies.

Zur Isolierung dieses Produkt wurde schliesslich in einer Salzsäurelösung 1M mit 3.4 Äquivalenten Formaldehyd das leicht gelbliche, pulverisierte Diaminomaleinsäuredinitril **3** unter starkem Rühren suspendiert. Dabei trat sofort ein feiner, weisser Niederschlag auf. Nach einem Tag Rühren war von Auge kaum mehr Edukt zu erkennen, das sich jeweils beim Abstellen des Rührers in Form von gelblichen, gröberen und unlöslichen Partikeln schnell setzte. Der Niederschlag wurde abfiltriert, enthielt aber nach  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum immer noch wenig Edukt. Er wurde aus Aceton/Pentan zwischen Raum- und Tieftemperatur ( $-20^\circ\text{C}$ ) kristallisiert, was das leicht gelbliche, feinkristalline Produkt **66** ergab (0.83g **66** aus 1.00g **3**). Die Qualität der Kristalle genügte aber einer Röntgenstrukturanalyse nicht. Die Struktur von **66** bleibt mit den vorliegenden (vgl. Abb. 31 - 33) spektroskopischen Daten (kein Massenspektrum) unbekannt. Weitere Experimente zu dessen Klärung wurden nicht angestellt.

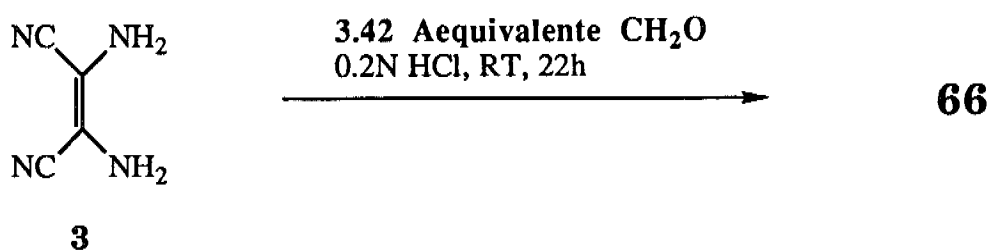


Abbildung 30: Reaktionsprodukt von **3** mit Formaldehyd bei pH 1: das strukturell nicht aufgeklärte Produkt **66**

Die Absorptionsmaxima von **66** (vgl. Abb. 31) in neutraler wässriger Lösung befinden sich bei 203 und 286nm ( $\lg\epsilon_{286} = 4.08$ ). Beide Maxima haben eine Schulter bei höherer Wellenlänge. Diaminomaleinsäuredinitril **3** hat sein Absorptionsmaximum bei 294nm ( $\lg\epsilon_{294} = 4.12$ ), Diaminomaleinsäurenitrilamid **58** bei 297nm ( $\lg\epsilon_{297} = 3.80$ ), jeweils in gleicher Lösung.

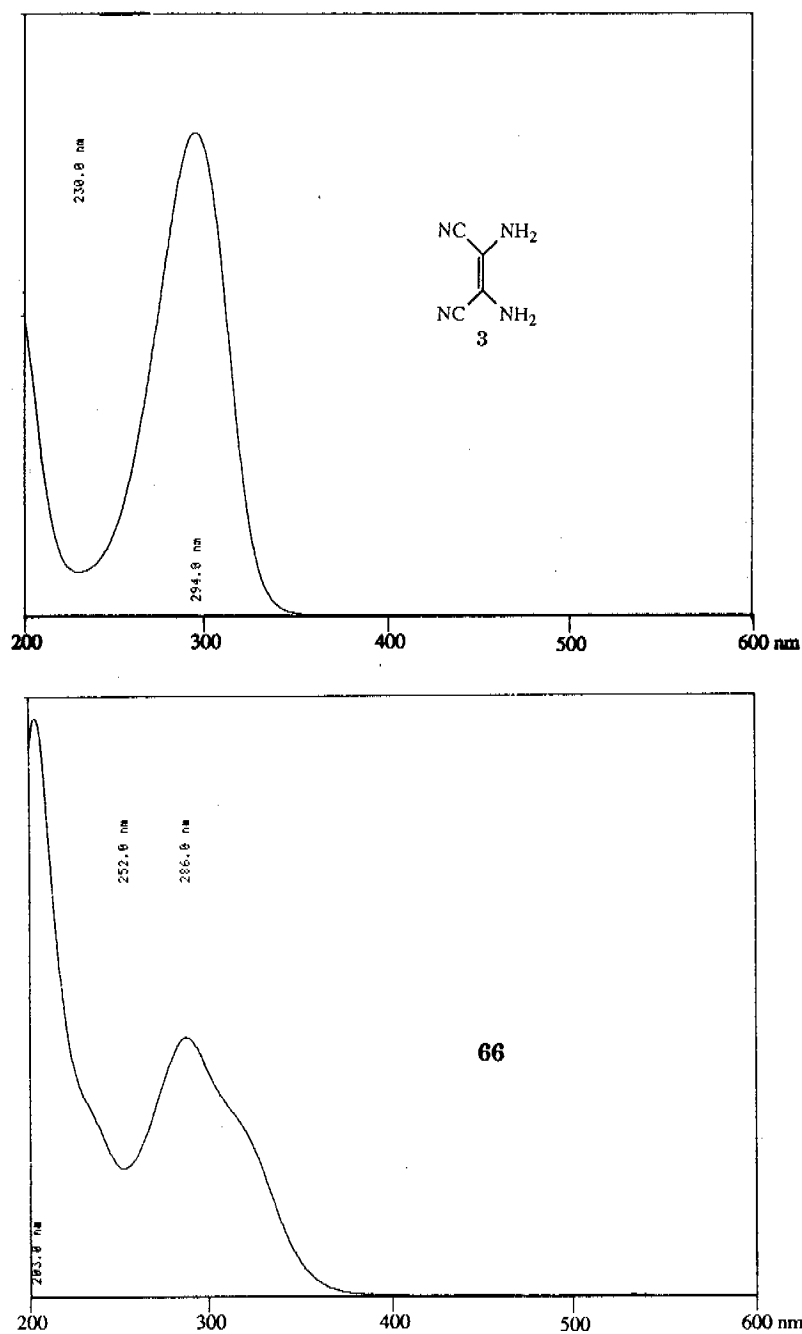


Abbildung 31: UV-Spektren von Diaminomaleinsäuredinitril **3** (oben) und dem Reaktionsprodukt **66** (unten), aufgenommen jeweils in H<sub>2</sub>O bei pH 7

Leider war weder mit Elektronenionisation, noch mit der FAB-Methode in verschiedenen Matrizen ein brauchbares Massenspektrum zu erhalten. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in d<sub>6</sub>-DMSO (vgl. Abb. 32 auf der nächsten Seite) zeigt ein breites Singulett bei 7.9ppm von zwei austauschbaren Protonen (mit 1 Tropfen 1% Trifluoressigsäure in D<sub>2</sub>O). Die Signale bei 4.34ppm und 4.04ppm mit Intensitäten, die je zwei Protonen entsprechen, sind zu Dub-

letts mit je 13.4Hz Kopplungskonstante aufgespalten. Das letzte Produktsignal, ein Singulett bei 3.98ppm, stammt von zwei Protonen. Ein NOE-Experiment zeigte eine Nachbarschaft der bei 7.9ppm, respektive 4.34ppm angeregten Protonen.

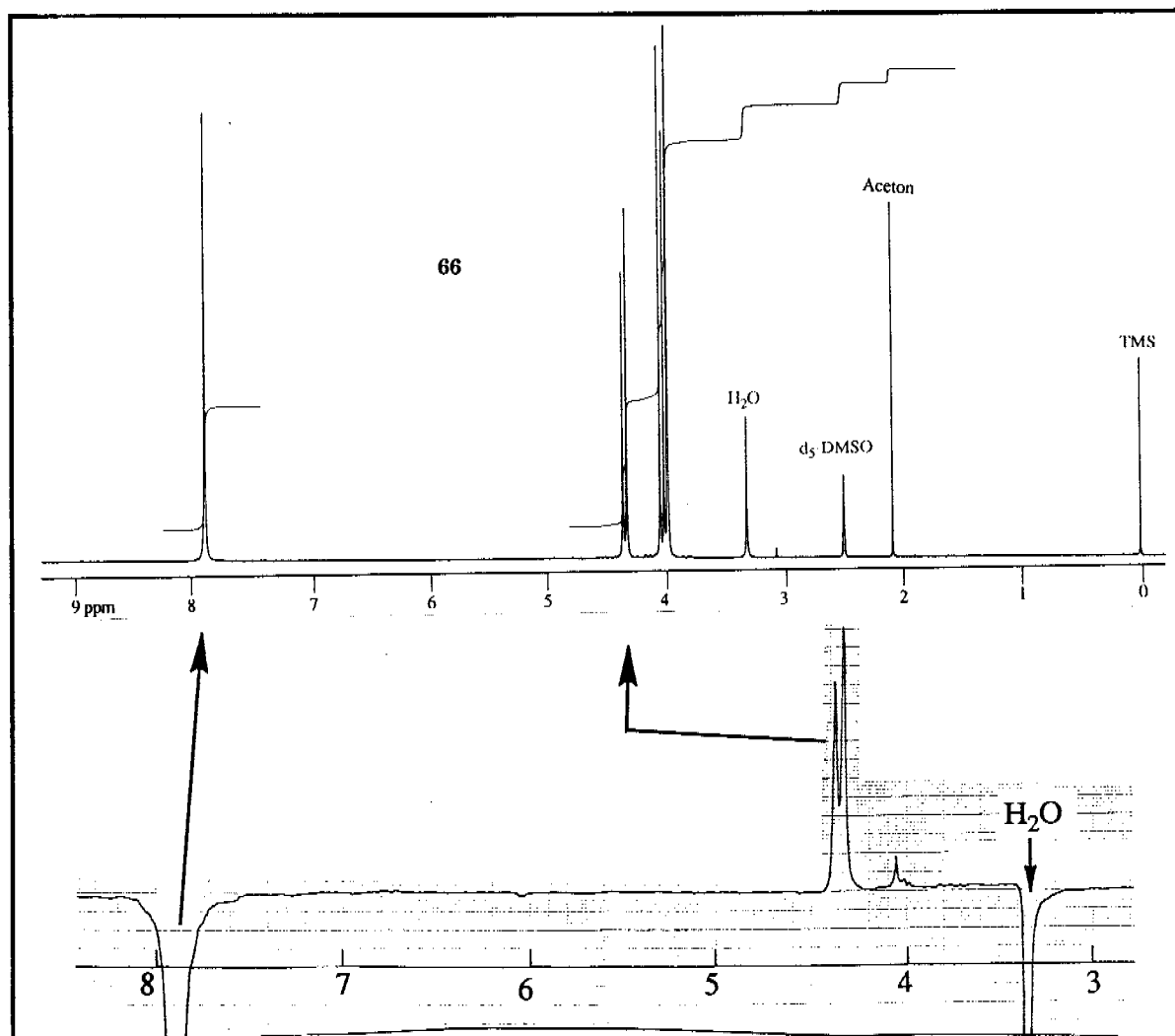


Abbildung 32: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **66** in d<sub>6</sub>-DMSO (oben). Dazugehöriges NOE-Experiment mit Einstrahlung bei 7.88ppm und Verstärkung des Signals bei 4.34ppm (unten)

Das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (vgl. Abb. im experimentellen Teil, S. 161) vom Produkt **66** enthält neben den Signalen vom Lösungsmittel d<sub>6</sub>-DMSO sechs Produktsignale. Zwei bei 63.7 und 69.8ppm sind von CH<sub>2</sub>-Gruppen, wobei das erste Signal etwa die doppelte Intensität des zweiten hat. Vier Signale von quaternären Kohlenstoffen sind bei 102.5, 114.5, 116.9 und 123.2ppm zu finden.

Das IR-Spektrum von **66** in KBr (vgl. Abb. 33) zeigt deutlich Banden von Amino- oder Hydroxyprotonen und von Methylengruppen, sowie zwei starke Cyano-Banden. Eine zu einer Carbonylgruppe gehörende Bande fehlt.

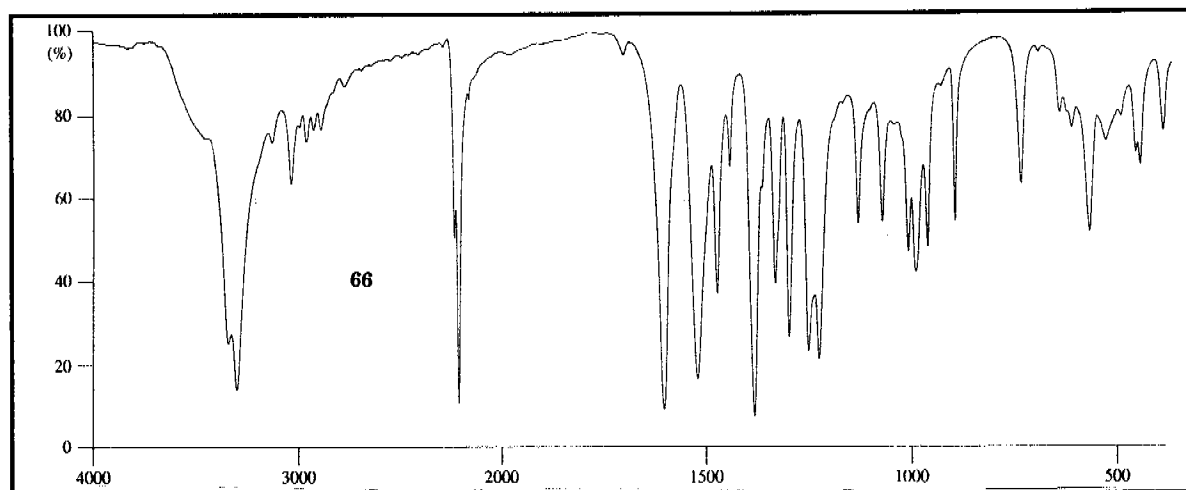


Abbildung 33: IR-Spektrum von **66** in KBr

### 3.4. Die formaldehydkatalysierte Hydratisierung des Blausäuretetrameren 5-Aminoimidazol-4-carbonitril

Das formale HCN-Tetramere 5-Aminoimidazol-4-carbonitril **23** ([58] [24]) entsteht nicht durch direkte Tetramerisierung von Blausäure, sondern photochemisch oder durch Reaktion mit Formamidin aus dem anderen Tetrameren Diaminomaleinsäuredinitril **3**. Auch mit dem Trimeren Aminomalonsäuredinitril **2** führt Formamidin [24] zu 5-Aminoimidazol-4-carbonitril **23**. Es ist ein zentrales Zwischenprodukt auf dem Weg zu Adenin **42** oder zu Diaminopurin **19**, respektive seinen partiell hydrolysierten Derivaten ([14] [20] [39] [59], sowie diese Arbeit, vgl. Kapitel 5).

Sanchez, Ferris und Orgel haben die Stabilität von 5-Aminoimidazol-4-carbonitril **23** gegenüber Hydrolyse untersucht [24]. Sie fanden zum Beispiel bei pH 10 und 100°C eine Halbwertszeit von 9h, bei 30°C eine extrapolierte von 2 Jahren. In anderen Experimenten [24] haben sie gezeigt, dass dabei zuerst 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid **24** entsteht. Dieses bildet sich auch, wie in einer Patentanmeldung [23a] beschrieben, aus Aminomalonsäurenitrilamid **52** und Formamidinsulfat. Die Hydratisierung von 5-Aminoimidazol-4-carbonitril **23** in konzentrierter Salzsäure bei 100°C innert 10min zu **24** erfolgt nach einem Patent [23b] in 91% Ausbeute (vgl. Abb. 34).

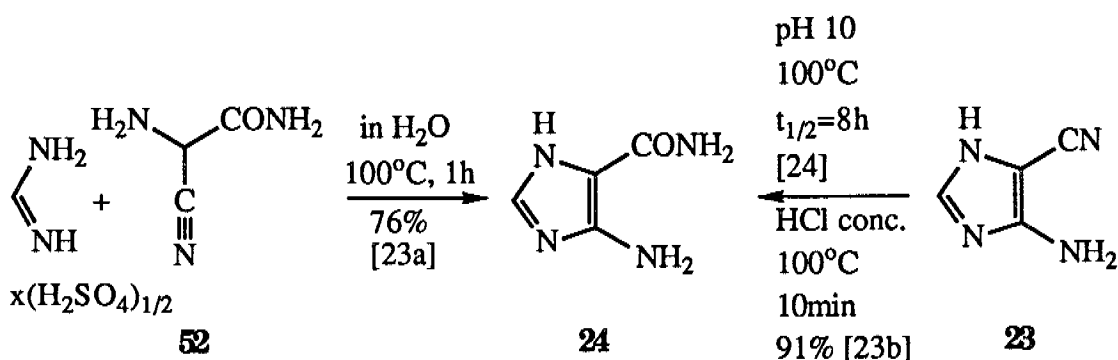


Abbildung 34: Bekannte Wege zu 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid **24**

In eigenen Versuchen wurde eine Formaldehydkatalyse der Hydratisierung untersucht. Tatsächlich zeigte das Ergebnis eine deutliche Beschleunigung (vgl. Abb. 35) bei Raumtemperatur im Vergleich zur unkatalysierten Reaktion bei 30°C [24]. In einer 20 mmolaren Lösung von **23** bei pH 10 und 30 Äquivalenten Formaldehyd war nach 17h auf dem DC und UV-Spektrum<sup>1</sup> nur noch **24** und kein **23** mehr zu erkennen. Die Isolierung von **24** neben den anscheinend entstehenden Formaldehydligomeren erwies sich als schwierig und wurde nicht weiterverfolgt. Die Reaktionsbedingungen konnten einigermaßen frei variiert werden. Grundsätzlich bewirkte eine Erhöhung des pH-Wertes oder der Formaldehydkonzentration eine Beschleunigung der Hydratisierung. Bei pH > 11 und hohen Formaldehydkonzentrationen zeigten sich aber auf dem DC noch andere Produkte.

In eigenen **Kontrollversuchen ohne Formaldehyd**, sonst aber gleichen Bedingungen wie in Abb. 35, wurden weder auf dem DC, noch im UV-Spektrum Spuren von **24** festgestellt.

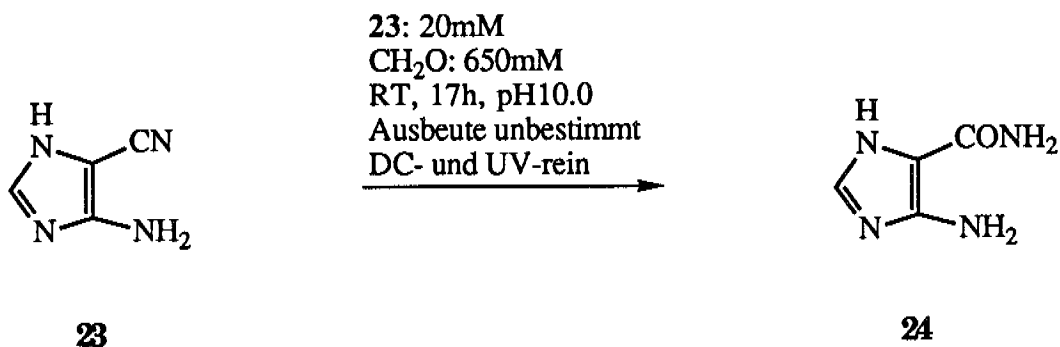


Abbildung 35: Formaldehydkatalysierte Hydratisierung von **23** zu 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid **24**

---

<sup>1</sup>DC mit UV-Detektion, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4)

UV-Spektrum in H<sub>2</sub>O bei pH 10

5-Aminoimidazol-4-carbonsäurenitril **23**: DC: R<sub>f</sub> 0.66, UV: λ<sub>max</sub> 248nm

5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid **24**: DC: R<sub>f</sub> 0.34, UV: λ<sub>max</sub> 267nm



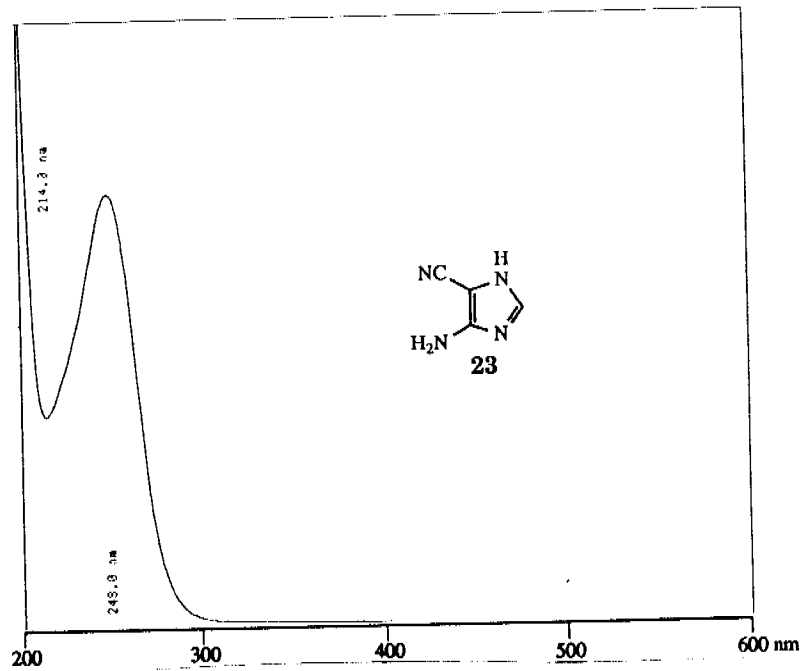


Abbildung 36: UV-Spektrum von 5-Aminoimidazol-4-carbonsäurenitril **23** zu Beginn der Reaktion aus Abb. 35, aufgenommen bei pH 10

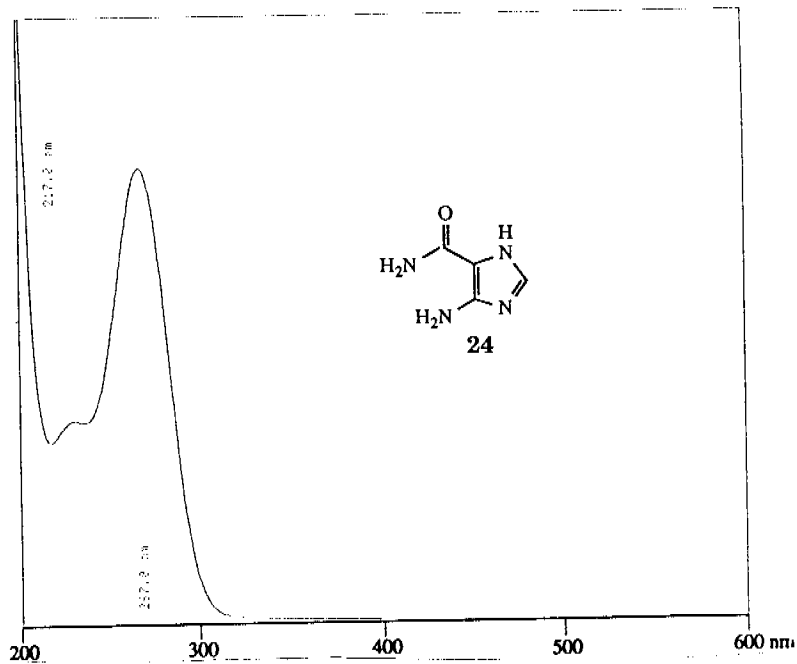


Abbildung 37: UV-Spektrum von 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid **24** nach 17h der Reaktion aus Abb. 35, aufgenommen bei pH 10



#### 4. AMINOPYRIMIDINE

Mit dem Nachweis der Bildung von Tetraaminopyrimidin **15** aus Guanidin **8** und Aminomalonsäuredinitril **2** hat Trinks [14] (vgl. Abb. 38) in unserem Laboratorium einen potentiell präbiotischen Weg zu diesem zentralen Baustein von Purin- und Pteridin-Naturstoffen dokumentiert. Im Laufe dieser Arbeit wurden Zugänge zu den partiell hydrolysierten Stufen von **15** gesucht. Einerseits wurde analog zur Trink'schen Synthese die Zugänglichkeit aus azyklischen, teilweise hydrolysierten Vorläufern untersucht, andererseits die Möglichkeit der direkten Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin **15** in Weiterführung der Arbeiten von Strupp [17] geprüft.

Dabei fanden wir 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** (vgl. Abb. 38) in 53% Ausbeute in einer sauerstofffreien Schmelze von Aminomalonsäurenitrilamid **52** mit Guanidin **8** bei 40°C über 3h. Isoliert wurde **16** als sauerstoffunempfindliches Sulfatsalz **16S** durch Zugabe von Schwefelsäure 2N. Wir hatten keinen Erfolg, mit variierten Versuchen in der Schmelze einen analogen Bildungsweg aus Harnstoff **9** und Aminomalonsäuredinitril **2** für 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** zu finden. In Schmelzen von Harnstoff **9** mit Aminomalonsäurenitrilamid **52** konnte kein Diaminouracil **18** festgestellt werden (vgl. Abb. 38).

Smith und Yates [60] berichten vom Aminomalonsäurenitrilamid **52** eine glatte Reaktion (vgl. Abb. 38) in salzsaurer Lösung bei Raumtemperatur innert 1h mit dem Harnstoffäquivalent Isocyansäure aus Kaliumcyanat. Dabei reagiert sie mit der C(2)-Aminogruppe von **52**, um das Carbamat **67** zu ergeben. Dieses schliesst in verdünnter Lauge bei 85°C innert 10min zum 4-Amino-2-oxoimidazol-5-carbonsäureamid **68**.

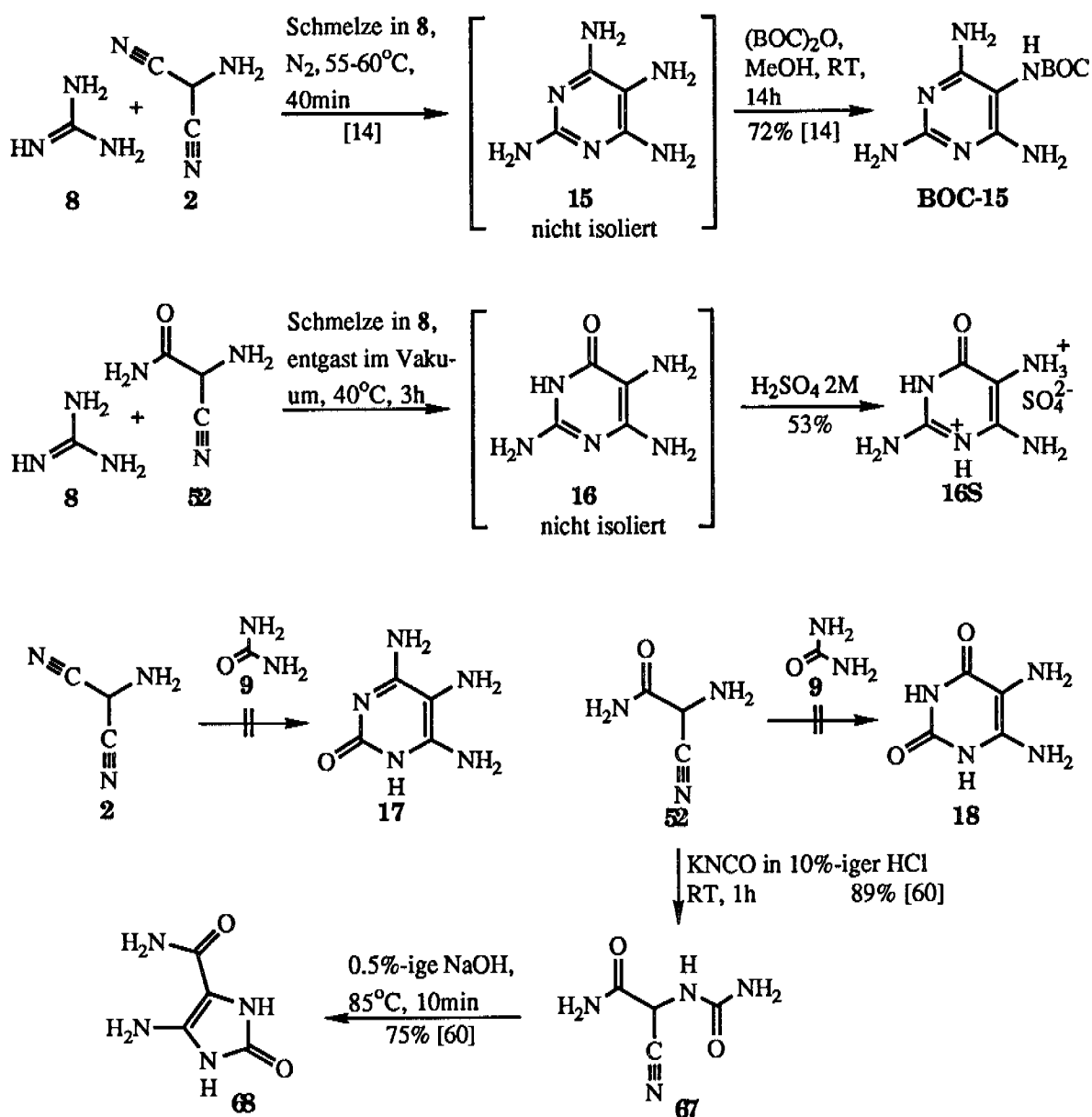


Abbildung 38: Tetraaminopyrimidin **15** und seine partiell hydrolysierten Derivate aus azyklischen Vorläufern

Zum zweiten Zugang zu diesen selektiv hydrolysierten Aminopyrimidinen - zur direkten Hydrolyse aus Tetraaminopyrimidin **15** - stellten Taylor und Cain [16] 1949 erste Versuche an. Sie unterwarfen Tetraaminopyrimidin **15** und 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** einem stündigen Kochen unter Rückfluss in Salzsäure 6N, isolierten schliesslich aber nur Edukt und ihre analytischen Methoden liessen keine anderen Produkte erkennen.

An der Luft werden basische und neutrale Lösungen von Tetraaminopyrimidin **15** innert Stunden immer dunkler gelbverfärbt. Auf dem DC sind treten eine Palette von fluoreszierenden Produkten auf. Die beiden Pyrimido-Pteridine **69** und **70**, die Taylor und Mitarbeiter [61] aus einer sauerstoffreichen, basischen und heissen Lösung von **15** isoliert haben, mögen dafür stehen. Sie bilden sich vermutlich durch Oxydation des elektronenreichen  $\alpha,\beta$ -Diaminoethylensystems in **15** zum  $\alpha,\beta$ -Diimin **71** das - hydrolysiert zum  $\alpha,\beta$ -Diketon oder nicht - mit **15** zu den beiden Isomeren **69** und **70** kondensieren kann (vgl. Abb. 39).

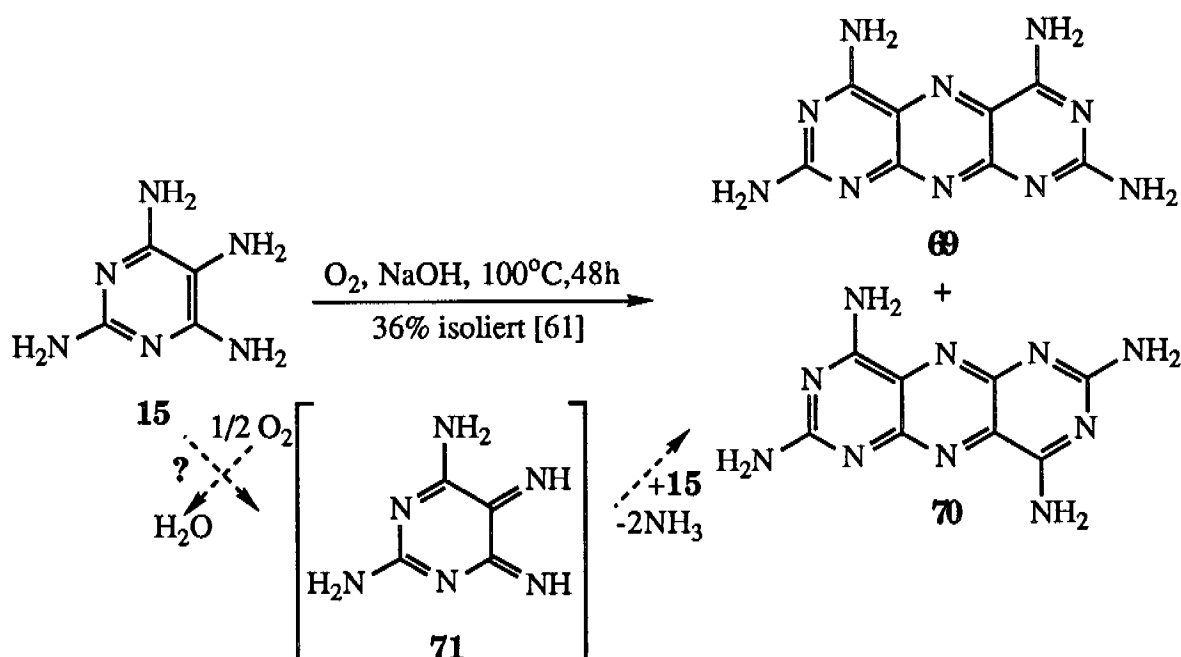


Abbildung 39: Oxidationsprodukte von Tetraaminopyrimidin **15** in heisser, sauerstoffhaltiger und basischer Lösung nach [61]

In Kenntnis dieser Reaktivität galt es, die Hydrolyse unter basischen Bedingungen in strikt anaerober Lösung durchzuführen. Erste Versuche von Strupp [17] führten gemäss DC zu keinen Umsetzungen, ausser Spuren von fluoreszierenden Produkten, die wahrscheinlich von der Oxidation/Dimeroidisierung stammten. Später konnte mit drastischeren Bedingungen und der empfindlicheren HPLC-Methode ein geringer Umsatz nachgewiesen werden, wie weiter unten beschrieben wird (vgl. nächste Seite).

In Anbetracht der Schwierigkeiten entwickelten Schreiber und Strupp eine HPLC-Trennmethode [17], basierend auf einer apolaren, stationären Phase (RP C-18, Marcherey-Nagel) und einem wässrigen 0.1% Perfluorbuttersäu-

re/Acetonitril-Gradienten. So konnten Basislinien-aufgelöste Peaks der vier Aminopyrimidine **15** - **18** erhalten werden. Die Retention dieser - unter den Chromatographierbedingungen protonierten - Aminopyrimidine beruht zur Hauptsache auf der Wechselwirkung des lipophilen Gegenions Perfluorbutyrat mit der apolaren stationären Phase, einer Ionenpaarchromatographie also.

Strupp [17] untersuchte später mit dieser Methode noch einmal die Hydrolyse in saurer Lösung. Er fand nach neunstündigem Erhitzen in Salzsäure 1N bei 81% Umsatz Ausbeuten von 43% an 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16**, 32% an 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** und auch 2.7% an 5,6-Diaminouracil **18** (vgl. Abb. 40) durch Vergleich der Peak-Integrale des HPL-Chromatogramms mit denjenigen von Lösungen authentischer Produkte.

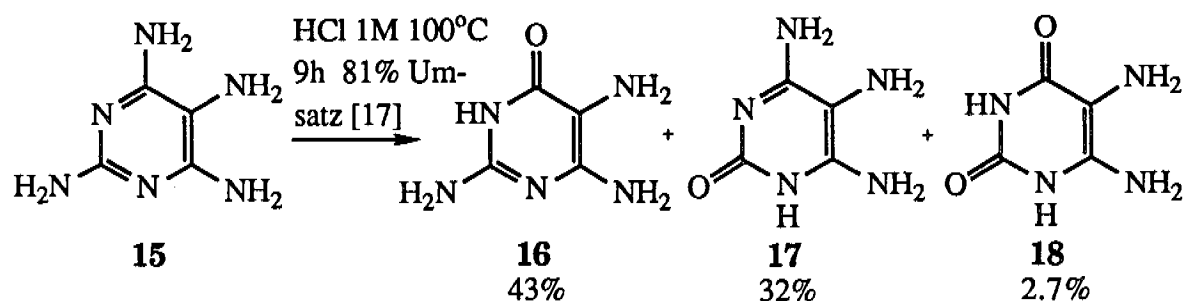


Abbildung 40: Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin **15** in saurer Lösung [17]

In eigenen Versuchen wurde - bevor die eben beschriebene, durchgehende und protonenkatalysierte Hydrolyse vom Tetraaminopyrimidin **15** zum 5,6-Diaminouracil **18** bekannt war - die Hydrolyse in basischer Lösung versucht. Dabei wurde der Oxydationsempfindlichkeit von **15** - **18** durch striktes Entgasen der Lösungen, Einschliessen in abgeschmolzene Ampullen und sofortiges Ansäuern nach dem Öffnen Rechnung getragen. Schon bald zeigte sich die hohe Stabilität von **15** unter solchen Bedingungen. Nach 20 Tagen in Natronlauge 2M bei 125°C wurden nur 5% Umsatz beobachtet, wobei aber die drei erwarteten Aminopyrimidine 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** in 1% Ausbeute, 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** zu 1.3% und auch 0.5% 5,6-Diaminouracil **18** gefunden wurden (vgl. Abb. 41). Die Ausbeuten wurden durch Vergleich der Peak-Integrale des HPL-Chromatogramms mit denjenigen von Masslösungen authentischer Produkte bestimmt. Zur zusätzlichen Charakterisierung neben der Retentionszeit und positiv verlaufenden Koinjektion wurde ein analoger Ansatz durch präparative HPL-Chromatographie aufgetrennt und die Fraktionen mit ihren DC-, HPLC-, UV- (vgl.

Abb. 42 - 45) und teilweise auch FAB-MS-Verhalten mit authentischen Produkten verglichen.

Da auch die einfach hydrolysierten Aminopyrimidine **16** und **17** grundsätzlich aus ihren azyklischen Vorläufern zugänglich sein sollten - was ja für 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** experimentell erwiesen wurde - war auch ihre Hydrolysierbarkeit zur Endstufe dieser Reihe, zum 5,6-Diaminouracil **18** zu prüfen. Auch die Aminopyrimidine **16** -**18** sind in neutralen bis basischen Lösungen wie **15** sauerstoffempfindlich, was bei solchen Versuchen ebenfalls strikter Ausschluss davon erfordert, wie oben beschrieben wurde.

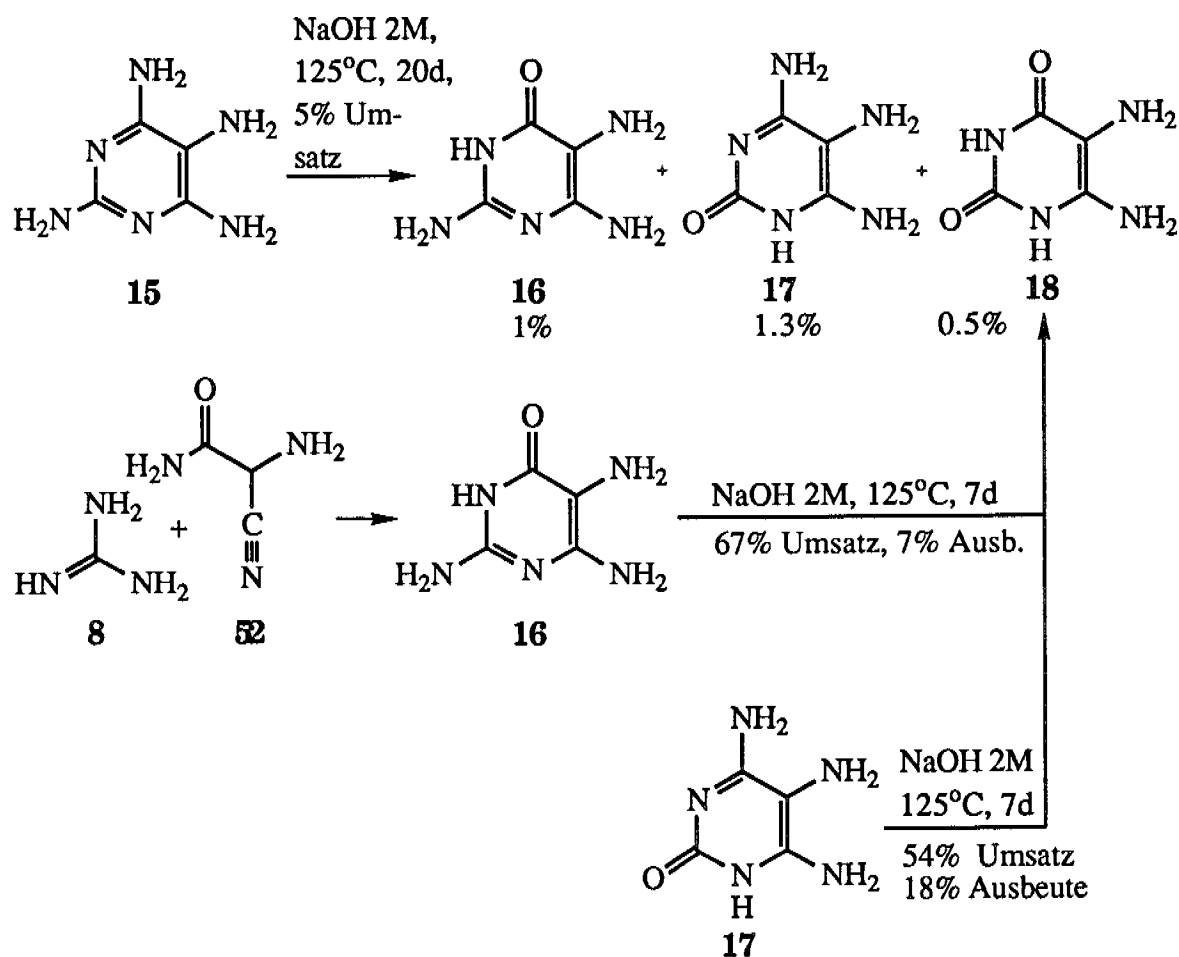


Abbildung 41: Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin **15**, 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** und 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** in basischen Lösungen

2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** ergab in Natronlauge 2N nach 7 Tagen bei 125°C und 67% Umsatz 7% Ausbeute an 5,6-Diaminouracil **18**. 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** gab bei den exakt gleichen Bedingungen 18% 5,6-Diaminouracil **18** bei 54% Umsatz (vgl. Abb. 41). Die quantitative Bestimmung und

die genaue Charakterisierung wurde nach derselben Methode wie oben vorgenommen. Dabei wurden bei der HPLC-UV-Detektion ausser den Ausgangsprodukten **16**, respektive **17** und dem Endprodukt **18** keine Produkte mit Absorption bei 265nm beobachtet.

In einem Kontrollexperiment wurde Diaminouracil **18** entgast über 20 Tage in Natronlauge 2N bei 125°C gehalten. Mit der oben beschriebenen Aufarbeitung und HPLC-Methode wurde danach ein Restgehalt von 92% **18** ermittelt. Diaminouracil **18** ist also bei diesen Bedingungen recht stabil gegenüber weitergehender Hydrolyse des Chromophors. Noch stabiler dagegen ist Tetraaminopyrimidin **15**, wie die oberste Linie in Abb. 41 zeigt, bleibt doch bei dessen Hydrolyse unter gleichen Bedingungen über 97% des Chromophors (summiert über alle Produkte) zurück. Die Abweichungen zwischen Umsatz und Ausbeuten an **18** bei den Hydrolysen (vgl. Abb. 41) von **16** (mittlere Linie, Umsatz von 67%, 7% **18**: Differenz 60%) und **17** (unterste Linie, Umsatz von 54%, 18% **18**: Differenz 36%) ist wohl durch eine chromophorzerstörende Hydrolyse von **16** und **17** als Nebenreaktion zu erklären.

In den oben beschriebenen Arbeiten sind zwei verschiedene Zugänge zu 5,6-Diaminouracil **18** aufgezeigt worden. Der eine führt über Tetraaminopyrimidin **15** und dessen hydroxid- oder säurekatalysierten Hydrolyse. Der andere führt über 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16**, das ja - in vergleichbarer Ausbeute wie Tetraaminopyrimidin **15** in der Trinks'schen Reaktion - aus den partiell hydrolysierten und damit stabilisierten, azyklischen Vorläufern **52** und **8** zugänglich ist und hydroxidkatalysiert ca. 40 mal effizienter hydrolysiert wird.



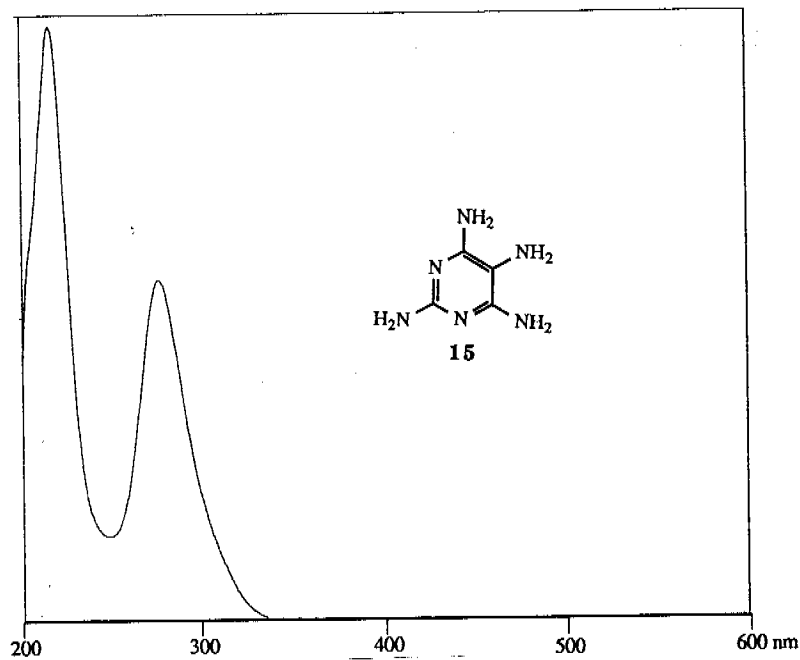


Abbildung 42: UV-Spektrum von Tetraaminopyrimidin **15** isoliert durch HPLC aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C gemäss Abb. 41, aufgenommen in wässriger 0.1% Perfluorbuttersäure

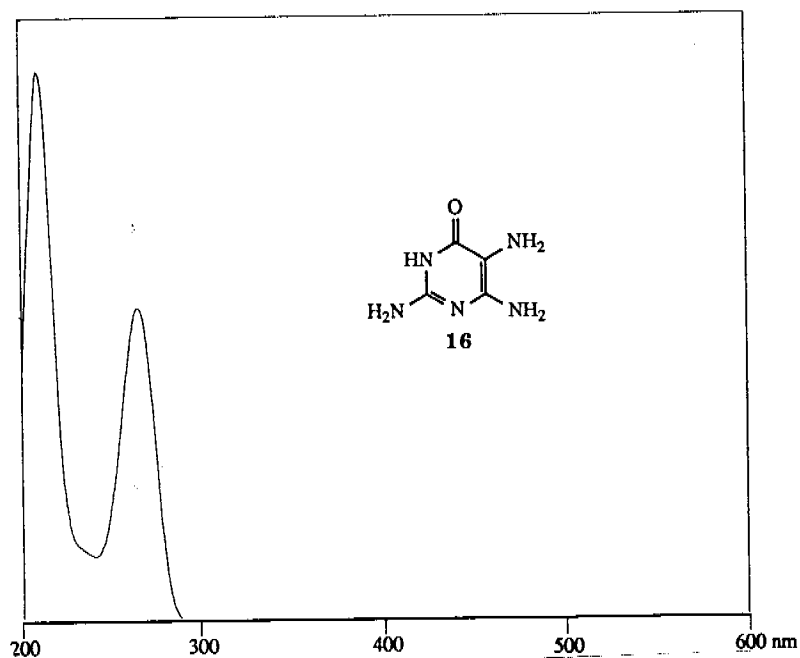


Abbildung 43: UV-Spektrum von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** isoliert durch HPLC aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C gemäss Abb. 41, aufgenommen in wässriger 0.1% Perfluorbuttersäure

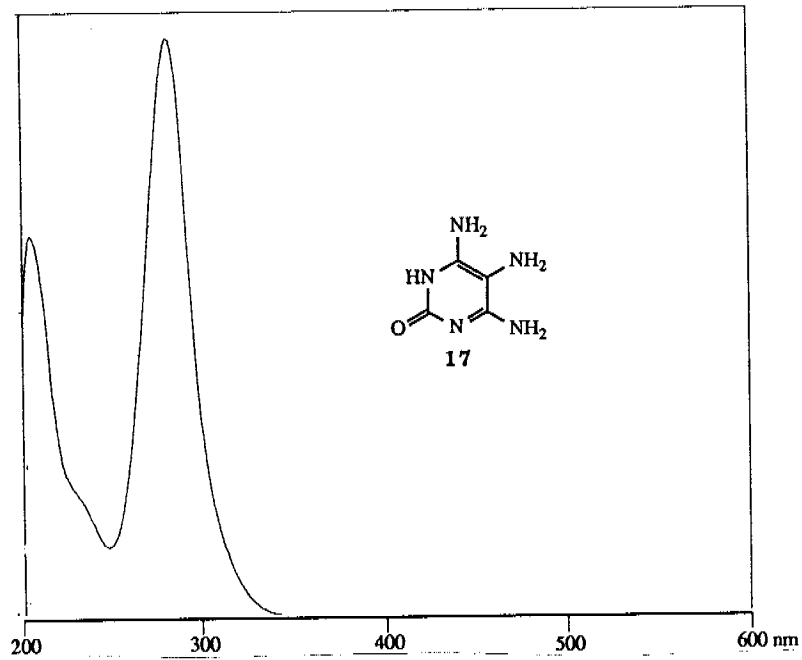


Abbildung 44: UV-Spektrum von 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** isoliert durch HPLC aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C gemäss Abb. 41, aufgenommen in wässriger 0.1% Perfluorbuttersäure

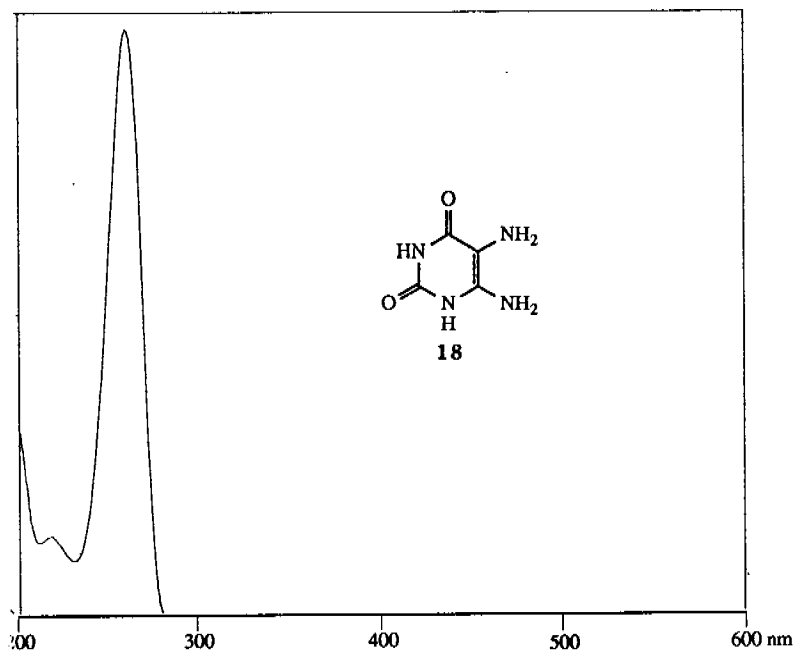


Abbildung 45: UV-Spektrum von 5,6-Diaminouracil **18** isoliert durch HPLC aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C gemäss Abb. 41, aufgenommen in wässriger 0.1% Perfluorbuttersäure

## 5. AMINOPURINE UND IHRE HYDROLYSE ZU XANTHIN

Die klassische Purinsynthese nach Traube - vgl. zum Beispiel [62] - geht von 5,6-Diaminopyrimidinen aus, die in siedender Ameisensäure an der reaktiveren 5-Aminogruppe formyliert werden. Die so gewonnenen, kristallinen 5-Formylamino-6-aminopyrimidine bilden in der Schmelze unter Verlust von Wasser die entsprechenden Purine.

So beschreibt Traube [62] die Synthese von 2,4-Diaminopurin **19** aus 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidinsulfat **15S** (vgl. Abb. 46)

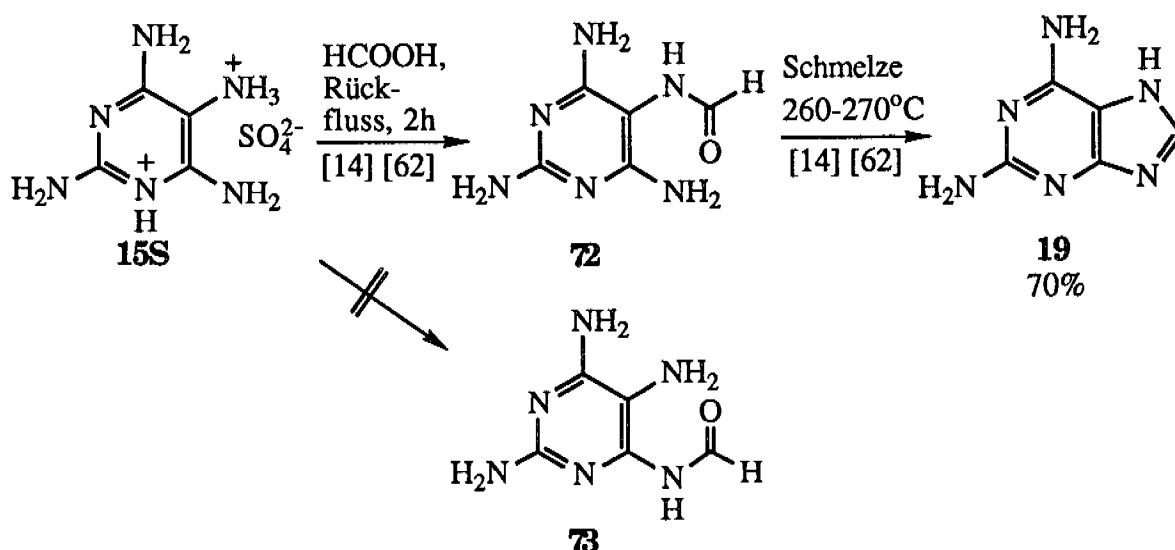


Abbildung 46: Synthese von Diaminopurin **19** aus Tetraaminopyrimidinsulfat **15S** nach Traube [62], durchgeführt von Trinks [14]

Das Zwischenprodukt 5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin **72** hat tatsächlich diese Struktur und ist nicht ein 4-Formylamino-2,5,6-triaminopyrimidin **73**, wie Trinks [14] vermutete. Dies wurde durch die Synthese des Zwischenproduktes **72** von Pitsch<sup>1</sup> in unserem Laboratorium und Röntgenstruk-

<sup>1</sup>unveröffentlichte Arbeit [93]

turanalyse<sup>1</sup> von Dr. B. Schweizer an der ETH gezeigt. Der Kristall wurde durch langsames Verdunsten einer wässrigen Lösung von **72** bei gegenüber Raumtemperatur leicht erhöhter Temperatur erhalten. Eine aus der Röntgenstrukturanalyse gerechnete Moleküldarstellung in Raumdarstellung (ORTEP-Plot) zeigt Abb. 47.

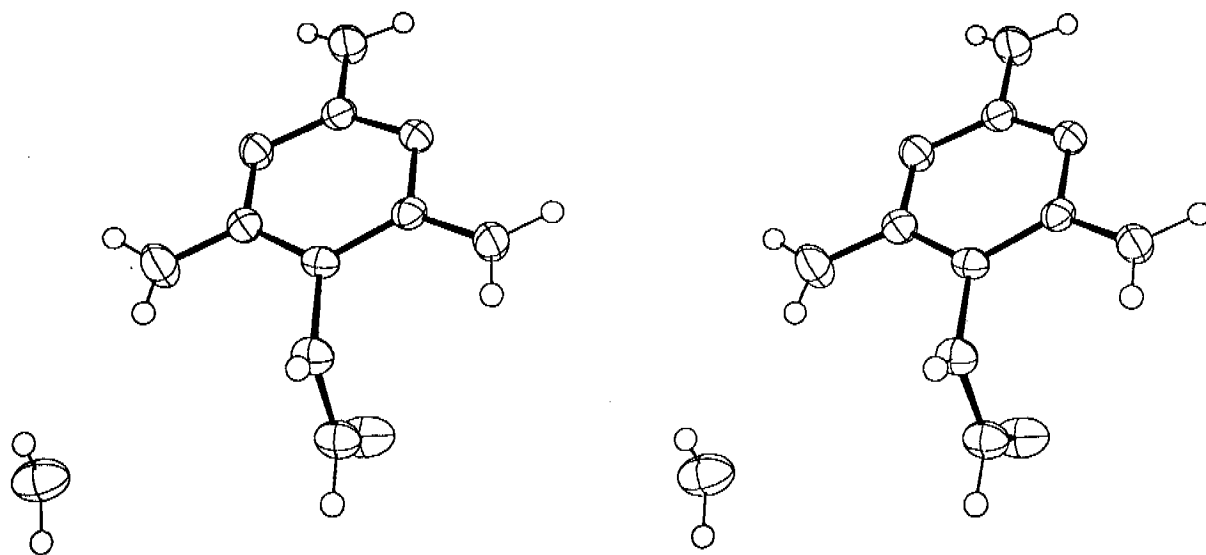


Abbildung 47: Darstellung von 5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin **72** aus der Röntgenstrukturanalyse (ORTEP-Plot)

---

<sup>1</sup>Beschreibung der Darstellung und alle röntgenstrukturanalytischen Daten im experimentellen Teil (vgl. S. 196) dieser Arbeit

In eigenen Versuchen wurde im Zusammenhang mit der Suche nach 6-Ribitylamino-5-aminouracil (vgl. Kapitel 6) festgestellt, dass zum Beispiel 5,6-Diaminouracil **18** auch bei wesentlich milderen Bedingungen formyliert wird. So konnte das Formamid **74** aus dem Hemisulfat von **18** nach 24h bei Raumtemperatur in reiner Ameisensäure mit 2 Äquivalenten Natriumformiat<sup>1</sup> in 73% Ausbeute durch Ausfällen mit Diethylether und Kristallisieren aus Wasser gewonnen werden (vgl. Abb. 48).

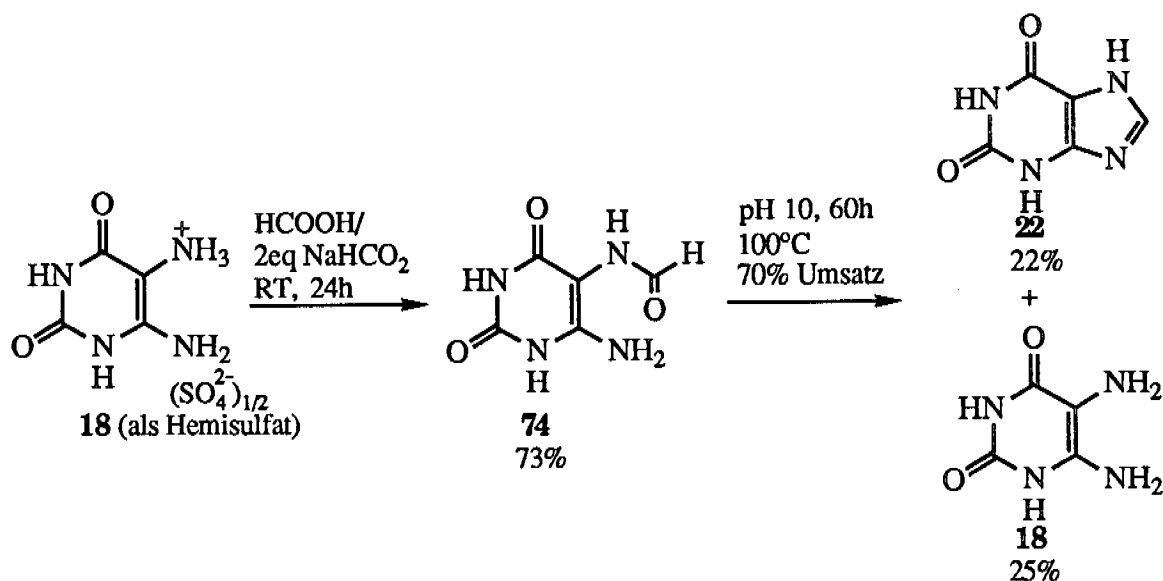


Abbildung 48: Formylierung von 5,6-Diaminouracil **18** bei Raumtemperatur und Zyklisierung des Formamides **74** in wässriger Lösung zu Xanthin **22**

Auch in anderem Zusammenhang - bei der Frage nach dem Bildungsweg von Xanthin in der leicht basisch geführten Hydrolyse (vgl. S. 85) von Xanthosin - erkannte man durch HPLC, dass 5-Formylamino-6-aminouracil **74** in Lösung bei  $\text{pH } 10$  und  $100^\circ\text{C}$  nach 60h bei 70% Umsatz zu 22% zu Xanthin **22** zyklisiert und zu 25% zu 5,6-Diaminouracil **18** hydrolysiert (vgl. Abb. 48).

Um die reine Ameisensäure als Medium zu vermeiden, wurde in der Literatur nach Aminopurinbildungswegen aus den Aminopyrimidinen mit anderen HCN-äquivalenten  $\text{C}_1$ -Bausteinen gesucht. Trinks [14] beschrieb sol-

<sup>1</sup>Wurde weniger als ein Äquivalent Natriumformiat zugegeben, sank die Ausbeute und die Reinheit (und damit Kristallisierbarkeit) des Rohproduktes drastisch

che Wege aus Tetraaminopyrimidin **15** und Adenin **42**, HCN-Polymerisat oder Diaminomaleinsäuredinitril **3** als HCN-Donor. Robins und Mitarbeiter [19] fanden nach 25min in Formamid unter Rückfluss<sup>1</sup> Ausbeuten zwischen 76 und 96% aus Tetraaminopyrimidinsulfat **15S**, 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat **16S** und 5,6-Diaminouracilhemisulfat **18S** zu den entsprechenden Aminopurinen **19**, **20** und **22**. Bendich und Mitarbeiter [22] erhielten analog Isoguanin **21** aus 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat **17S** in Formamid mit wenig Ameisensäure bei 160°C über 3h in 93% Ausbeute (vgl. Abb. 49).

Auch die rahmengerechte Zugänglichkeit zu all diesen Aminopurinen **19** - **22** über die Imidazolvorläufer **23** und **24** ist experimentell gezeigt. So ist nach einem Patent von Asai [20] Diaminopurin<sup>2</sup> **19** in 88% Ausbeute aus 4-Amino-5-imidazolcarbonitril **23** in einer Guanidinschmelze bei 120°C über 40min zugänglich. Ebenso [20] bildet 4-Amino-5-imidazolcarbonsäureamid **24** in Guanidinschmelze bei 130°C über 15min Guanin **20** in 80% Ausbeute. Gemäss eigenen Versuchen reagiert Harnstoff analog. In Schmelzen davon gibt **23** bei 140°C über 3h Isoguanin **21** in 58% Ausbeute, **24** bei gleichen Bedingungen Xanthin **22** in 47% Ausbeute (vgl. Abb. 49). Das letztere ist aber ähnlich bereits in der Literatur beschrieben. Shaw [59] verwendete das leichter zugängliche Hydrochlorid von **24** und erhielt damit in Harnstoff bei 175°C über 2h Xanthin **22** in 75% Ausbeute. Auch stellte er aus dem Dihydrochlorid von 4-Amino-5-imidazolcarboxamidin **75C** in Harnstoff bei 160°C über 2h Isoguanin **21** in 70% Ausbeute her. **75** tritt nach Oró und Kimball [58], sowie Ferris und Orgel [63] in konzentrierten, wässrigen Ammoniumcyanid/Blausäurelösungen neben **23** und **24** beim Stehenlassen auf.

---

<sup>1</sup>Die Autoren machten keine Angaben über den Druck. Bei Normaldruck siedet Formamid bei 210°C, allerdings unter Zersetzung. Diese wurde wahrscheinlich wegen der kurzen Reaktionszeit ignoriert.

<sup>2</sup>In Unkenntnis dieses Patentversuchs versuchte Trinks [14] denselben Bildungsweg allerdings bei 70°C über 24h. Interessanterweise isolierte er neben 45% Diaminopurin **19** auch 5% Adenin **42** (beide als Benzamide). Die Base Guanidin **8** hat anscheinend die Freisetzung eines HCN-Äquivalents aus dem 5-Amino-4-imidazolcarbonitril **23** ermöglicht, das mit einem anderen Molekül **23** zu Adenin **42** reagiert.

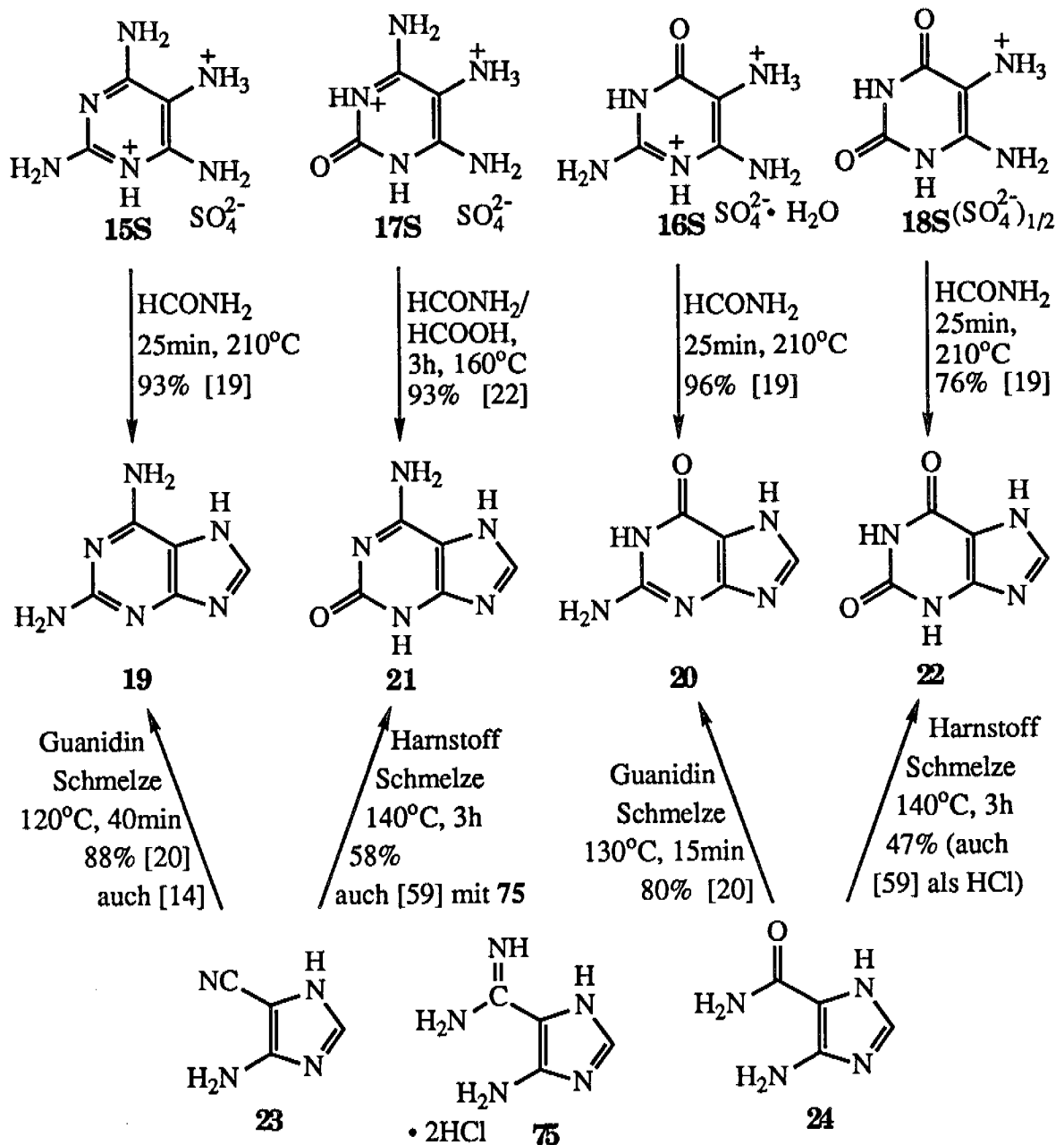


Abbildung 49: Aus monozyklischen Pyrimidin- und Imidazolbausteinen zu den entsprechenden Purinen 19 -22

Ausser diesen Aufbaureaktionen ist die Hydrolyse von Diaminopurin **19** und partiell hydrolysierten Derivaten zu prüfen. Trattner und Mitarbeiter [21] bearbeiteten diese Frage in einem erweiterten Zusammenhang. In Natronlauge 2N nach 24 h unter Rückfluss isolierten sie nur Ausgangsprodukt **19** zurück. Sie beobachteten, dass Diaminopurin **19** in siedender Salzsäure 6N nach 4h unter Rückfluss gemäss DC in ein Gemisch von **19** mit Guanin **20** übergegangen war. Nach 24h schliesslich isolierten sie daraus analysenreines Xanthin **22** in 85% Ausbeute. Nach den Beobachtungen von Trattner und Mitarbeitern [21] scheint die Hydrolyse von **19** nach **22** also über Guanin **20** zu verlaufen. In Ergänzung dazu versuchten wir die säurekatalysierte Hydrolyse von Isoguanin **21** und isolierten nach 20h in siedender Salzsäure 6N Xanthin **22** in 78% Ausbeute (vgl. Abb. 50).

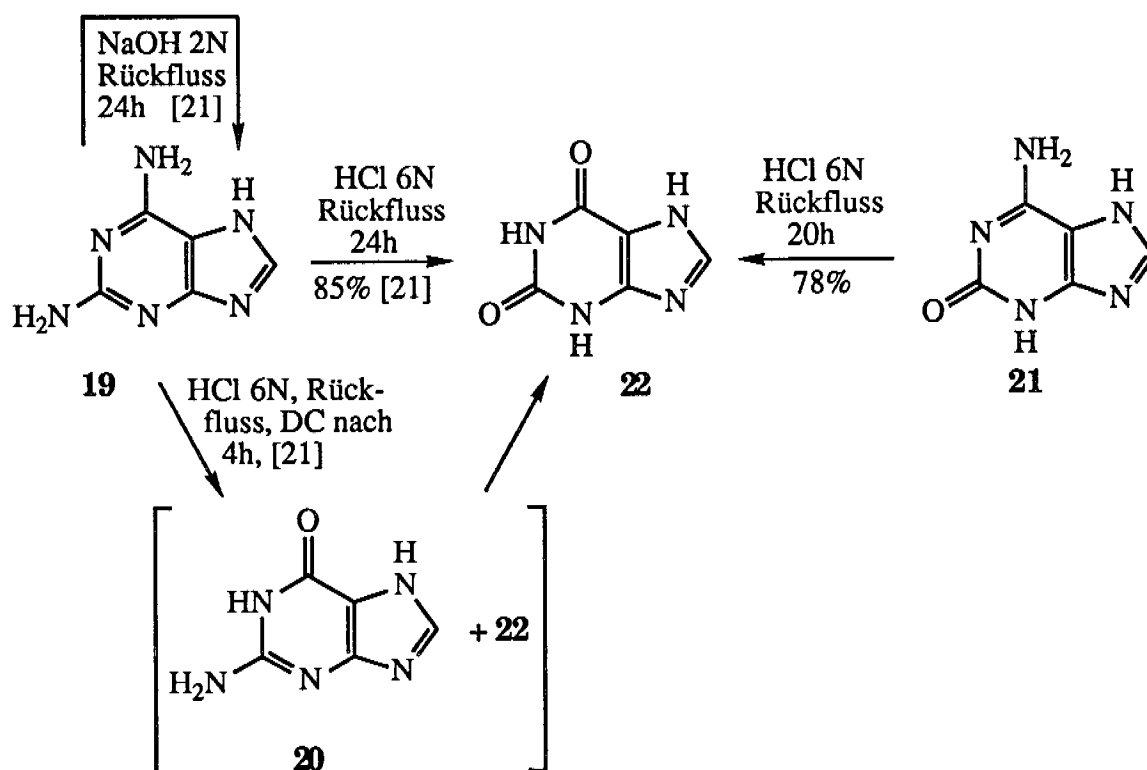


Abbildung 50: Xanthin **22** und Guanin **20** durch säurekatalysierte Hydrolyse von Diaminopurin **19**, sowie gleicher Art Xanthin **22** aus Isoguanin **21**



## 6. VERSUCHE ZUR BILDUNG VON 6-RIBITYLAMINO-5-AMINOURACIL

6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** wurde für Untersuchungen der Biosynthese von Riboflavin durch Davoll und Evans [64] und in unserem Laboratorium zur Dokumentation eines potentiell präbiotischen Bildungsweges durch Strupp [17] - unter Mithilfe von Song [65] - verbessert in einer vierstufigen Synthese aus D-Ribose **25** und 6-Chloruracil **76** hergestellt (vgl. Abb. 51).

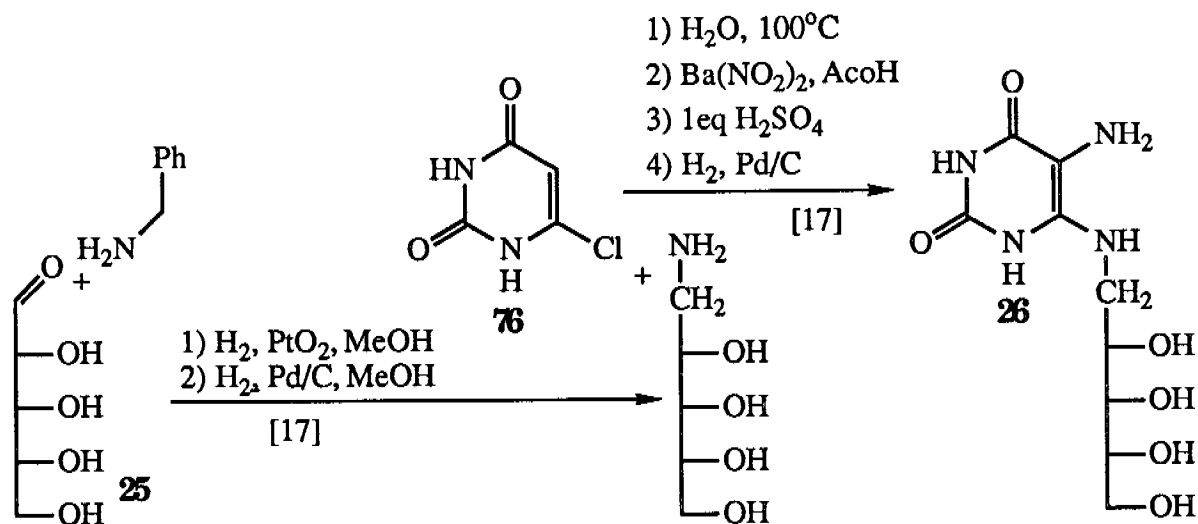


Abbildung 51: Synthese von 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** durch Strupp [17] zu Referenzzwecken

Dieser Bildungsweg ist natürlich nicht mit den Rahmenbedingungen vereinbar, hat aber - was an dieser Stelle verdankt sei - aus Ansätzen von Strupp [17] authentisches 6-Ribitylamino-5-Aminouracil **26** als analytisches Referenzmaterial geliefert.

Eine rahmengerechte Bildung davon hat wohl vom bereits erschlossenen 5,6-Diaminouracil **18** (vgl. Kap. 4), oder aber von einer seiner ebenfalls verfügbaren Hydrolysevorstufen auszugehen. Ribose-2,4-diphosphat und damit potentiell Ribose **25** bildet sich unter Rahmenbedingungen, wie Pitsch [36] in unserem Laboratorium zeigte. Die in der Synthesestrategie zentrale Verknüpfung der Ribitylkette mit dem Uracil-Teil hat dabei unter umgekehrten Nukleophilie/Elektrophilie-Vorzeichen der beiden Teile zu passieren, als in der oben beschriebenen Synthese. Die katalytische Hydrierung muss durch

eine rahmengerichte Reduktionsmethode ersetzt werden. Ameisensäure als Hydrolyseprodukt von Blausäure könnte in einer formalen Leuckart-Wallach-Reaktion diese Aufgabe am geeigneten Kondensationsprodukt von **18** mit **25** erfüllen. Auch die im Reaktionsgemisch bereits vorhandenen oxydationsempfindlichen 5,6-Diaminopyrimidine könnten als Reduktionsmittel dienen.

Als erste Strategie wurde eine einfache Kondensation von 5,6-Diaminouracil **18** mit Ribose **25** in Anwesenheit von Formiat ins Auge gefasst (vgl. Abb. 52). Die Idee dahinter war, dass Ribose wie andere Aldehyde [26] zuerst mit der 5-Aminogruppe zum Imin **77** kondensiert, das aber mit dem 5-Amino-6-aminoaminal **78** und auch mit dem 6-Aminogruppe kondensierten Imin **79** im Gleichgewicht stände. Dieses Gleichgewicht wäre gewiss zugunsten von **77** verschoben, aber das Oxydationspotential des elektronendefizienteren Imins **79** wäre höher, **79** also leichter und im Idealfall selektiv zu reduzieren. Damit würde dieses irreversibel dem Gleichgewicht entzogen, indem es zu 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** reagierte. Ameisensäure wäre deprotoniert, als negativ geladenes Formiat sicher das bessere Reduktionsmittel, allerdings wären in einer sauren Umgebung die Imine **77** und (vermutlich) auch **79** protoniert, was das Oxydationspotential erhöhen würde. Von vorne herein sind alle Möglichkeiten zu prüfen.

Erst im Laufe der Versuche fanden wir eine Vorschrift von Blackburn und Johnson [66], die die Bildung von 5-Ribosylamino-6-aminouracil **80** aus **18** und **25** behauptete. Sie konnte in wechselnden Ausbeuten nachvollzogen werden. Das isolierte, nicht kristalline Produkt **80** bestand aber gemäss <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie aus einem Gemisch von mindestens 4 wahrscheinlich isomeren Verbindungen, vermutlich  $\alpha$ - oder  $\beta$ -konfigurierte, pyranoside oder furanoside Formen, aber auch ca. 10% des Imins **77**. Dieses Produktgemisch war ein weiterer interessanter, weil vorgeschobener Ausgangspunkt für Versuche zur Bildung von 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** auf diesem Weg.

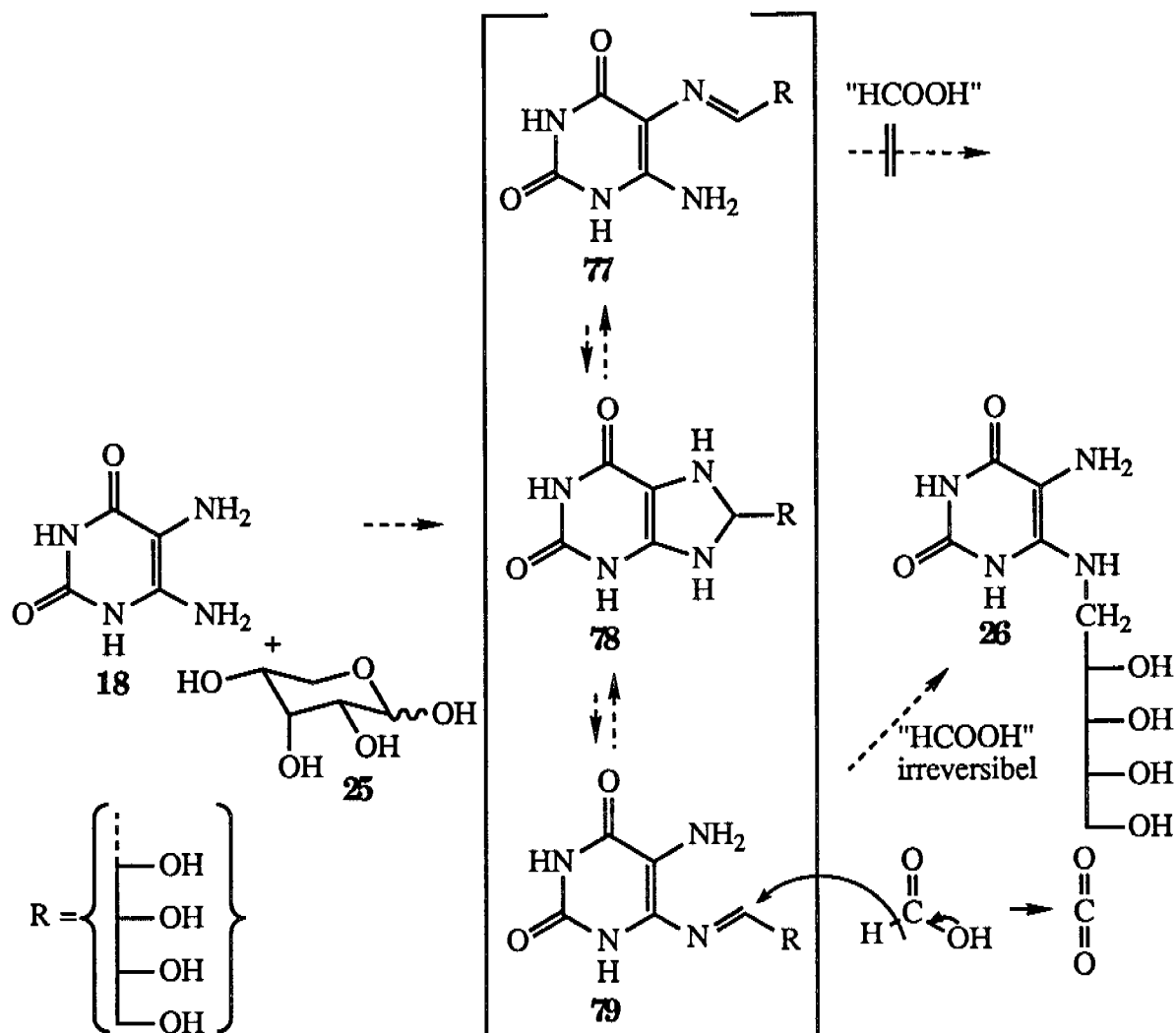
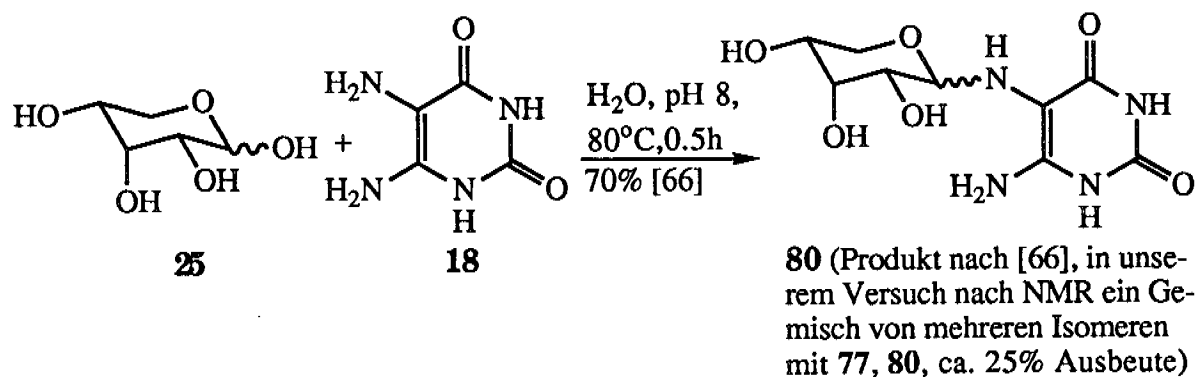


Abbildung 52: Reaktion von 5,6-Diaminouracil **18** und Ribose **25** nach Blackburn und Johnson [66] oben, sowie hypothetischer Reaktionsmechanismus einer möglichen Bildung von 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** aus 5,6-Diaminouracil **18** und Ribose **25** in Gegenwart von Ameisensäure als externem Hydriddonator unten

Alle Versuche mit dieser Strategie blieben erfolglos, in keinem Experiment konnte 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** detektiert werden. Dafür stand mit der Dünnschichtchromatographie<sup>1</sup> zusammen mit der UV-Absorption oder Anfärbung durch das Ninhydrin-Sprühreagenz eine einfache und sehr empfindliche Methode zur Verfügung. Dabei musste wegen der Oxydationsempfindlichkeit der 5,6-Diaminopyrimidine auf sauerstofffreie Reaktionsführung und sofortige Analyse geachtet werden. Sauerstoffspuren in neutralen und basischen Reaktionsgemischen vor der DC-Analyse ergeben fluoreszierende Oxydations-/Dimeroidisierungsprodukte. Spätere Versuche wurden auch mit dem auf S. 65 beschriebenen HPLC-System für Aminopyrimidine analysiert. **26** wird dabei auf der apolaren Säule kaum zurückgehalten<sup>2</sup>. NMR-, IR-, MS- und UV-Spektroskopie sind bei den zu erwartenden Gemischen zur Detektion von **26** ungeeignete Methoden. Zur Suche nach Vorstufen von **26**, insbesondere nach dem Imin **77** ist aber die <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie geeignet, sollte doch ein neues Signal um 9ppm für das Imin-Proton auftreten.

Die Versuche sind in der folgenden Tabelle 3 zusammengefasst:

Nr.	Edukte	Bedingungen/Aufarbeitung	Produkte/Analytik
1	0.65M <b>18S</b> 0.77M <b>25</b>	Ethanol, RT, 20h, Argon	DC: fluoreszierende Produkte, sonst nur Edukte, ebenso IR, EI-MS, <sup>1</sup> H-NMR: kein <b>77</b>
2	0.86M <b>18S</b> 1M <b>25</b>	Ameisensäure, RT, 18h	DC: <b>18</b> , <b>74</b> , aber <b>25</b> zersetzt und kein <b>26</b>
3	0.2M <b>18</b> 0.2M <b>25</b>	Ameisensäure, 85°C, 18h	DC: <b>74</b> , aber <b>25</b> zersetzt und kein <b>26</b>
4	0.2M <b>18S</b> 0.2M <b>25</b>	Natriumformiat-Puffer pH 4.8, RT, 20h	DC: <b>25</b> und <b>18</b> , kein <b>26</b> MS, <sup>1</sup> H-NMR: <b>25</b>

<sup>1</sup>UV-Detektion oder goldgelber Fleck mit dem Ninhydrin-Sprühreagenz auch bei kleinsten Mengen, R<sub>f</sub> 0.20 (Kieselgel, AcOH/H<sub>2</sub>O/n-BuOH 1:2:4)

<sup>2</sup>t<sub>R</sub> = 5.2min, (Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel) 250•4.6mm, analytisch, Detektion UV 265nm, Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in H<sub>2</sub>O, Laufmittel B: A/Acetonitril 1:9, t = 0min: 0%B bis t = 15min: 30% B)

5	0.2M 18S 0.2M 25	Formamid, RT, 24h	DC: kein 26
6	0.2M 18S 0.2M 25	NaOMe/MeOH, Natriumformiat	DC: kein 26 unbekannte Nebenprodukte
7	0.2M 18S 0.2M 25	Ameisensäure/Pyridin 1:1, 85°C, 15h	DC: kein 26
8	0.2M 18S 0.2M 25	Pyridin/Acetonitril 1:5,, RT, 40h	DC: Edukte, <sup>1</sup> H-NMR: kein 77
9	0.2M 18S 0.2M 25	H <sub>2</sub> O, pH 7, RT, 40h	DC: Edukte, <sup>1</sup> H-NMR: kein 77
10	0.2M 18S 0.2M 25	Pyridin/DMF 1:5, 40°C, 120h	DC: fluoreszierende Produkte, Edukte, <sup>1</sup> H-NMR: kein 77
11	0.2M 18S 0.2M 25	Pyridin/H <sub>2</sub> O 1:5, RT, 100h	<sup>1</sup> H-NMR: 25, 18 aber kein 77 unbekannte. Nebenprodukte
12	0.2M 18S 0.2M 25	MeOH, AcoH, 75°C, 6h	<sup>1</sup> H-NMR: Edukte, kein 77, Gel
13	0.2M 18 0.2M 25	DMSO, 110°C, RT, 24h	<sup>1</sup> H-NMR: Edukte, Zersetzung von 25, kein 77
14	0.07M 18S 0.22M 25	18S in H <sub>2</sub> O, 100°C, NaOH bis pH8, dann 25, 0.5h, 80°C	70% 77B: 4 Isomere (auch 77) nach NMR (Vorschrift: [66])
15	0.03M 80	Ameisensäure, RT, 5min - 2h	DC: Edukte, 18, 74 und Zerset- zungsprodukte, aber kein 26

Tabelle 3: Reaktion von Diaminouracil 18<sup>1</sup> mit Ribose 25, teilweise in Gegenwart von Ameisensäure oder Formiat

Nachdem die oben beschriebenen Versuche zu keinem Erfolg führten, bei den Versuchen 2, 3 und 15 aber festgestellt wurde, wie leicht 5,6-Diaminouracil 18 in das 5-Formamid 74 übergeführt werden kann, wurde mit dieser Verbindung als Edukt weiter versucht. Die Idee dahinter war nicht nur, Ribose 25 erzwungenermassen mit der 6-Aminogruppe - die reaktivere 5-Aminogruppe war ja geschützt - kondensieren zu lassen, sondern auch das bereits vorhandene Ameisensäureäquivalent im Formamid 74 gleich als Hydridonator zu benutzen, wie in Abb. 53 dargestellt ist. Das Formamid wäre

---

<sup>1</sup>Diaminouracil(-hemisulfat) 18(S) war meistens schlecht löslich. Es wurde deshalb in der Riboselösung suspendiert. Die in der Tabelle angegebene Konzentration bezieht sich auf den hypothetischen Fall einer vollständigen Auflösung.

allerdings nur in basischer Umgebung, das heisst als deprotoniertes Halbaminol zu dieser Reduktion fähig.

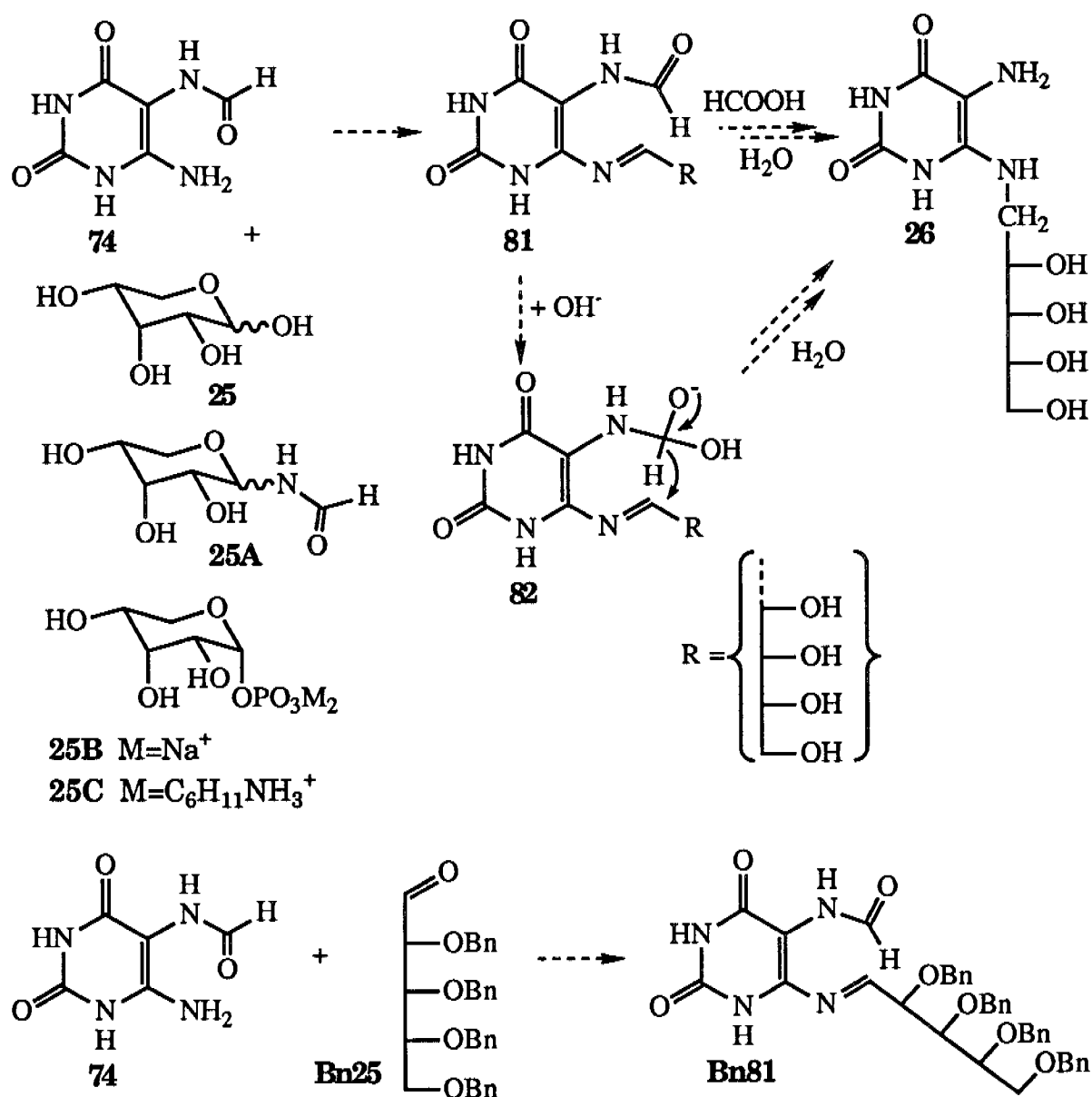


Abbildung 53: Möglicher Mechanismus der Bildung von 6-Ribitylamino-5-aminouracil 26, ausgehend von 5-Formylamino-6-aminouracil 74 mit der Formamido-gruppe als internem Hydridonator oben und Versuch zur Kondensation von 74 mit der Ribose-Aldehydform unten

Da Ribose 25 mit 5-Formylamino-6-aminouracil 74 nicht wie gewünscht kondensierte, wurden aktivierte Derivate davon eingesetzt (vgl. Abb. 53 und Tab. 4).

1-Formamidoribose **25A** wurde nach Czarnik und Leonard [67] synthetisiert, Ribopyranose- $\alpha$ -1-phosphat **25B** in Analogie zur Methode von Buck [68] für die furanoside Form aus Ribopyranose- $\beta$ -tetraacetat [69] und kristalliner Phosphorsäure. Tetra-O-benzylribose **Bn25** schliesslich wurde aus dem Ribose-dimethyl-mercaptopal [70] über Benzylierung und Mercaptalspaltung [71] gewonnen.

Nr.	Edukte	Bedingungen/Aufarbeitung	Analytik/Produkte
1	0.01M <b>74</b> 0.01M <b>25</b>	H <sub>2</sub> O, 95°C, 4h, eingedampft	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> und <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
2	0.007M <b>74</b> 0.007M <b>25</b>	MeOH, 60°C, 4h, eingedampft	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> und <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
3	0.04M <b>74</b> 0.08M <b>25</b>	H <sub>2</sub> O, 100°C, 6h, eingedampft	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25</b> , <b>18</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
4	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25</b>	0.06M NaHCO <sub>3</sub> , 100°C, 3h, eingedampft	<sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> und <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
5	0.2mmol <b>74</b> 0.27mmol <b>25</b>	Ameisensäure, RT, 3h, wässrige Aufarbeitung	DC: <b>74</b> , <b>25</b> und Zersetzungsprod. von <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
6	0.04M <b>74</b> 0.054M <b>25</b>	0.5M Essigsäure, RT, 65h Ampulle	DC: <b>74</b> und <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
7	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25</b>	3M Essigsäure, 80°C, 4h	DC: <b>74</b> , <b>25</b> und wenig <b>18</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
8	0.04M <b>74</b> 0.8M <b>25</b>	H <sub>2</sub> O, 80°C, 64h	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25</b> und Hydrolyseprod. <b>18</b> von <b>74</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
9	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25</b>	0.04M NH <sub>4</sub> Cl, 80°C, 64h,	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25</b> und wenig <b>18</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
10	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25</b>	DMSO, 100°C, 64h, eingedampft	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25</b> , sowie Zersetz.prod. von <b>25</b> , kein <b>81</b>
11	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25</b>	DMF, 100°C, 6h, eingedampft	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25</b> , sowie Zersetz.prod. von <b>25</b> , kein <b>81</b>
12	0.022M <b>74</b> 0.025M <b>25</b>	DMSO, 50°C, 20h, Polyphosphatethylester [72], einged., wässr., pH-neutrale Aufarb.	DC: <b>74</b> , <b>25</b> , <b>18</b> und Zersetz.prod. von <b>25</b> , kein <b>81</b>
13	0.9mmol <b>74</b> 1mmol <b>25</b>	HV, 100°C, "Schmelze", 8h, wird schwarz	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> und Zersetz. produkte von <b>25</b> , kein <b>26</b> od. <b>81</b>
14	0.9mmol <b>74</b> 3.1mmol <b>25</b>	160°C, "Schmelze", 4h, wird schwarz	DC: <b>74</b> , <b>25</b> und Zersetzungsprodukte von <b>25</b> , kein <b>26</b> od. <b>81</b>
15	0.9mmol <b>74</b> 3.1mmol <b>25</b>	160°C, "Schmelze", 15min, ca. 10mg p-TosOH, wird schwarz	DC: <b>74</b> , <b>25</b> und Zersetzungsprodukte von <b>25</b> , kein <b>26</b> od. <b>81</b>
16	0.9mmol <b>74</b> 3.1mmol <b>25</b>	180°C, "Schmelze", 30min, wird schwarz	DC: <b>74</b> und Zersetzungsprodukte von <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>

17	0.83mmol <b>74</b> 0.8mmol <b>25A</b>	HV, RT bis 110°C, "Schmelze", 4h, wird schwarz	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , Zersetz. prod. von <b>25A</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
18	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25B</b>	H <sub>2</sub> O, 80°C, 2h, pH 4.2	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25B</b> und <b>25</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
19	0.04M <b>74</b> 0.04M <b>25B</b>	0.04M NaHCO <sub>3</sub> , 90°C, 2h	DC, <sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> , <b>25B</b> , <b>18</b> , kein <b>26</b> oder <b>81</b>
20	1mmol <b>18</b> 1mmol <b>Bn25</b>	Schmelze, RT bis 120°C, 11h, langsame Braunverfärbung	<sup>1</sup> H-NMR: <b>74</b> und <b>Bn25</b> , kein <b>Bn81</b>

Tabelle 4: Experimente zur Möglichkeit einer Kondensation der 6-Aminogruppe von 5-Formylamino-6-aminouracil **74**<sup>1</sup> mit Ribose(-derivaten) und anschließender Reduktion zu **26**

Da in den vorangehenden Versuchen keine Möglichkeit gefunden wurde, die Ribose mit der 6-Aminogruppe von 5,6-Diaminouracil(-derivaten) zu kondensieren, wurde in einer neuen Strategie von Xanthosin **83** ausgegangen. Dort ist Ribose bereits mit dem gewünschten Stickstoff verbunden und nach dem, in Abb. 54 dargestellten, hypothetischen Mechanismus könnte daraus 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** entstehen. Beispiele für Imidazolringöffnungen von Purinen und ihren Nukleosiden [73], sowie bei DNA [74] in basischem Milieu sind literaturbekannt. Im sauren, wird ja einfach der Zucker abhydrolysiert.

---

<sup>1</sup>5-Formylamino-6-aminouracil **74** war schlecht löslich. Bei Reaktionen in Lösung wurde es deshalb suspendiert. Die in der Tabelle angegebene Konzentration bezieht sich dann auf den hypothetischen Fall einer vollständigen Auflösung.



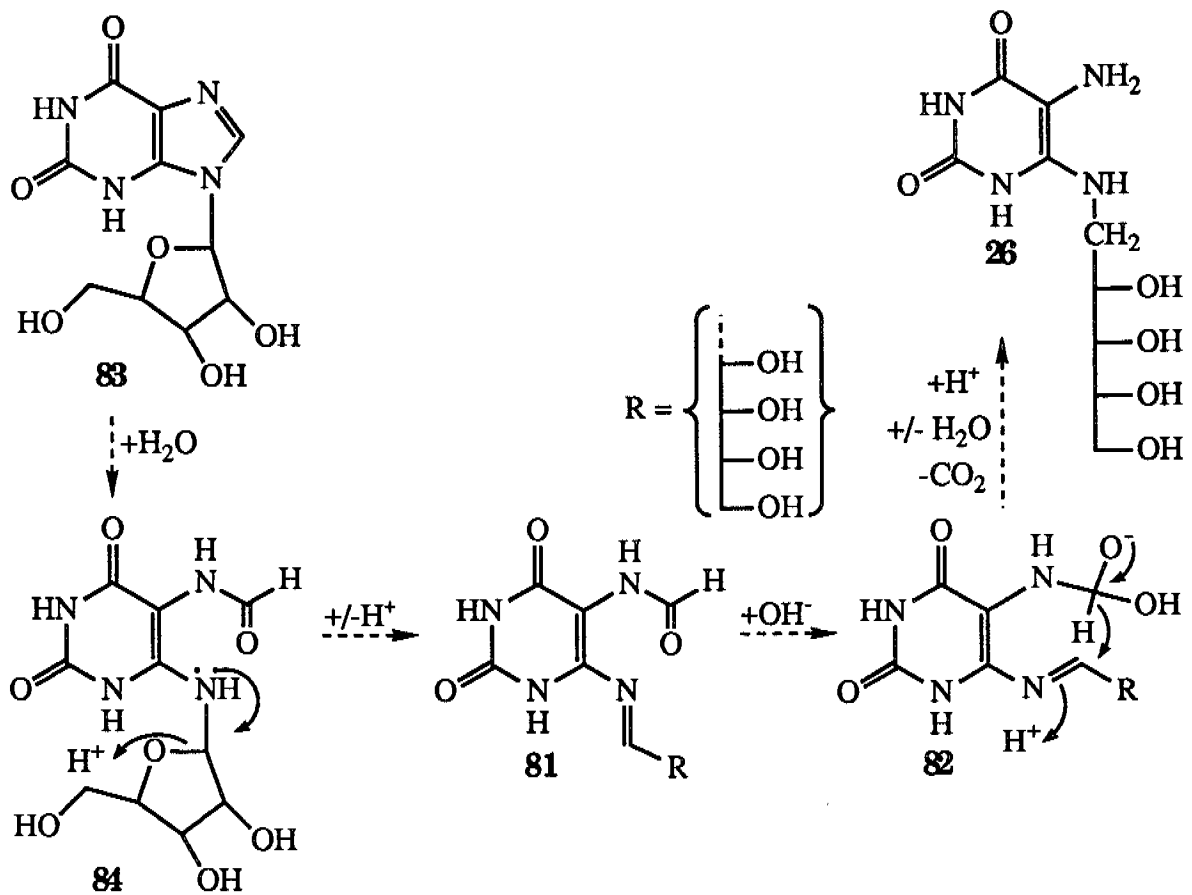


Abbildung 54: Hypothetischer Mechanismus von Xanthosin **83** zu 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** in basischem Milieu

Auch für Xanthosin **83** liess sich diese Imidazolringöffnung beobachten. Das entstandene 5-Formylamino-6-ribosylaminouracil **84** reagierte aber gemäss Tabelle 5 in keinem Versuch zu 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** weiter, sondern hydrolysierte (vgl. Abb. 55) vermutlich über das Imin **81** zu Ribose **25** und 5-Formyl-6-aminouracil **74**. Dieses schloss dann teilweise zum Xanthin **22** oder verlor Ameisensäure und ging in 5,6-Diaminouracil **18** über.

Nr.	Edukt	Bedingungen	Analytik/Produkte
1	0.1M 83	pH 7,4, 105°C, 6d	HPLC: 90% 83 2% 22 6% 74 und 18, kein 26 Diacetyl dazu, HPLC: kein 6,7 Dimethyl-8-ribityllumazin
2	0.1M 83	pH 7,4, 105°C, 6d, 5µmol MnCl <sub>2</sub>	HPLC: wie bei Versuch Nr.1
3	0.1M 83	pH 8, 105°C, 250h	HPLC: 72% 83 3% 22 19% 74 und 18, kein 26
4	0.1M 83	pH 9, 105°C, 250h	HPLC: 88% 83 4% 22 8% 74 und 18, kein 26
5	0.1M 83	pH 10, 105°C, 250h	HPLC: 86% 83 6% 22 6% 74 und 18, kein 26
6	0.05M 83	2N NaOH, 105°C, 110h	HPLC: 89% 83 8% 22, kein 26
7	0.05M 83	10N KOH 120°C 210h	HPLC: 83 , 22 und unbek. Prod., kein 26
8	0.05M 83	10N KOH, gesättigt mit Natriumformiat, 120°C, 210h	HPLC: 83 , 22 und unbek. Prod., kein 26 Diacetyl dazu, HPLC: kein 6,7 Dimethyl-8-ribityllumazin 28
9	0.05M 83	pH 10, gesättigt mit Natriumformiat 110°C, 250h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
10	0.05M 83	pH 10, 1mmol 18S 110°C, 111h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
11	0.05M 83	pH 6, 4mmol Ribose 25, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
12	0.05M 83	pH 7, 4mmol Ribose 25, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
13	0.05M 83	pH 8, 4mmol Ribose 25, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
14	0.05M 83	pH 6, 4mmol Ribose 25, 0.5mmol 18S, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
15	0.05M 83	pH 7, 4mmol Ribose 25, 0.5mmol 18S, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
16	0.05M 83	pH 8, 4mmol Ribose 25, 0.5mmol 18S, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
17	0.05M 83	pH 6, 4mmol Ribose 25, 30mmol Natriumformiat, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26
18	0.05M 83	pH 7, 4mmol Ribose 25, 30mmol Natriumformiat, 110°C, 200h	HPLC: 83, 22, 74 und 18, kein 26

19	0.05M <b>83</b>	pH 8, 4mmol Ribose <b>25</b> , 30mmol Natriumformiat, 110°C, 200h	HPLC: <b>83</b> , <b>22</b> , <b>74</b> und <b>18</b> , kein <b>26</b>
20	0.1M <b>83</b>	NaOH 2N, RT, Mittel- druck-UV-Lampe, 16h	HPLC: Viele Zersetzungsprodukte, kein <b>26</b>
21	0.1M <b>83</b>	pH 10, RT, Mitteldruck- UV-Lampe, 16h	HPLC: Viele Zersetzungsprodukte, kein <b>26</b>

Tabelle 5: Versuche zur Hydrolyse von Xanthosin **83** auf der Suche nach 6-Ribityl-  
amino-5-aminouracil **26**

Was zum Beispiel bei Versuch Nr. 5, Tabelle 5 - mit genauer Beschreibung  
im experimentellen Teil, vgl. S. 187 - geschah, und vermutlich wie, ist in  
Abb. 55 dargestellt.

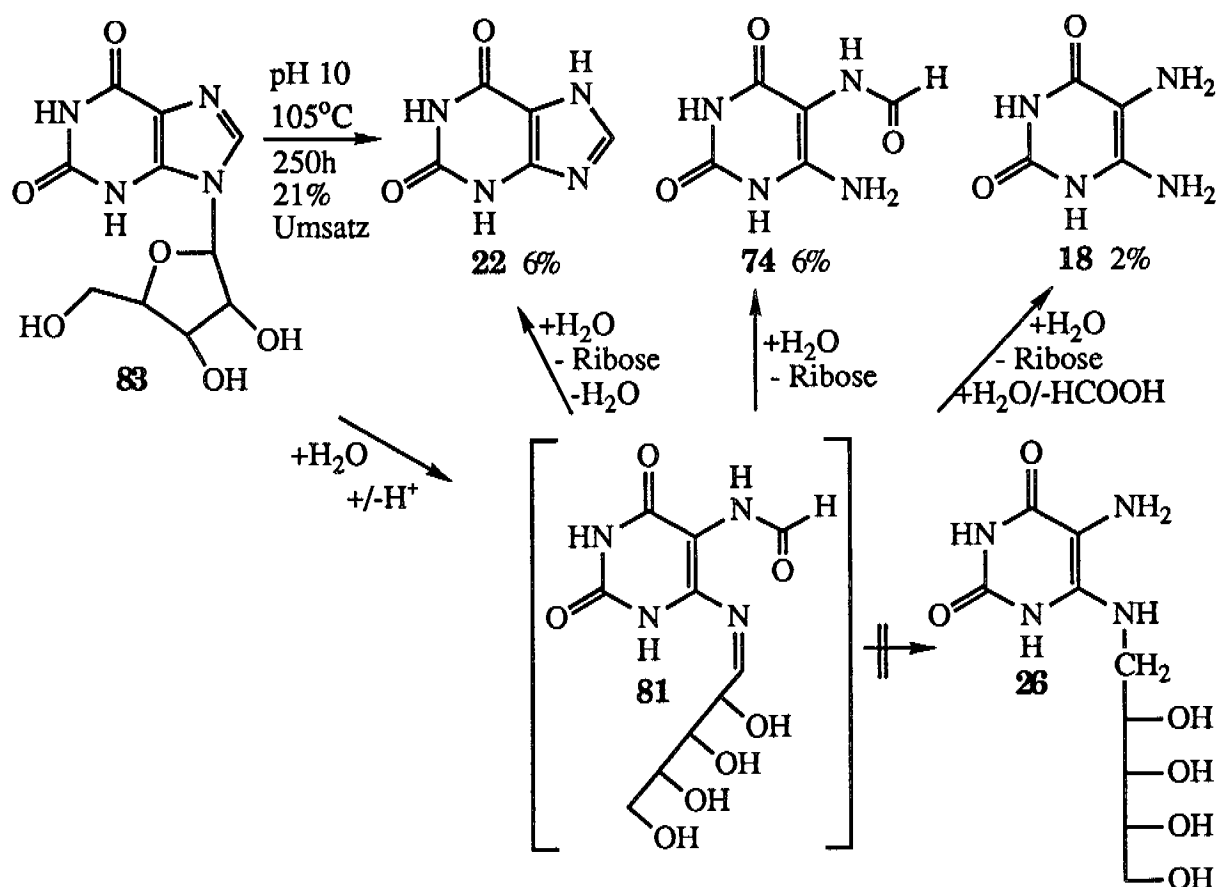


Abbildung 55: Möglicher Mechanismus zu den isolierten Produkten Xanthin **22**, 5-  
Formylamino-6-aminouracil **74** und 5,6-Diaminouracil **18** aus der basisch geführ-  
ten Hydrolyse von Xanthosin **83**. Dieser verläuft über das interessierende Imin **81**.

Seite Leer /  
Blank leaf

## 7. FOLSAEURE

Folsäure **85** oder Vitamin B<sub>c</sub> (vgl. Abb. 56) wurde 1943 zum ersten Mal isoliert [75] und dessen Struktur 1948 bestimmt [76]. Ein Defizit an **85** verursacht beim Menschen und bei Tieren Anämien. Es ist ein Wachstumsfaktor für eine Vielzahl von Mikroorganismen.

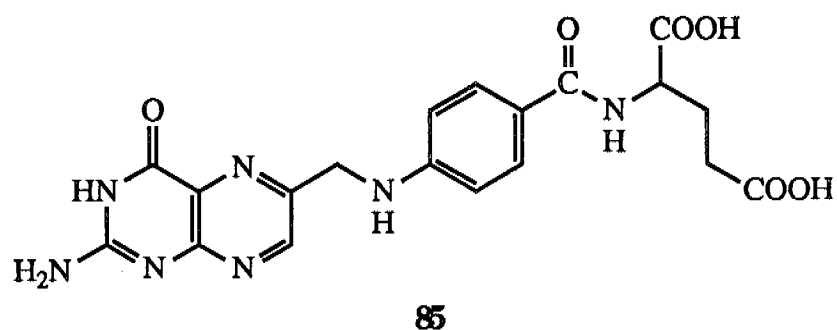


Abbildung 56: Die Struktur von Folsäure **85**

Der Vorläufer 4-[6'-(2'-Amino-4'-pteridinonyl)methyl]aminobenzoesäure **37** entsteht biosynthetisch [77] (vgl. Abb. 57) aus Guanosintriphosphat **86**, dessen Imidazolring durch das Enzym GTP Cyclohydrolase geöffnet wird, um so zum Pyrimidinon **87** zu gelangen. Diese formale Hydrolyse wird fortgesetzt durch Ameisensäure-Abspaltung von der 5-Aminogruppe. Nach Amadori-Umlagerung an der Ribosylgruppe zu **88** wird durch Ringschluss das Pteridinon **89** gebildet. Zwei der drei Seitenketten-Kohlenstoffe werden durch eine Retro-Aldol-Reaktion entfernt, zurück bleibt der Alkohol **90**. Dieser wird zur Aktivierung phosphoryliert, wobei die Phosphatgruppe wieder durch 4-Aminobenzoesäure **39** verdrängt wird, was schliesslich zum Dihydropteridinon **91** führt. Dieses wird durch Oxydation des heterozyklischen Teils zu **34** und darauf folgende Kondensation mit Glutaminsäure in Folsäure **85** überführt.

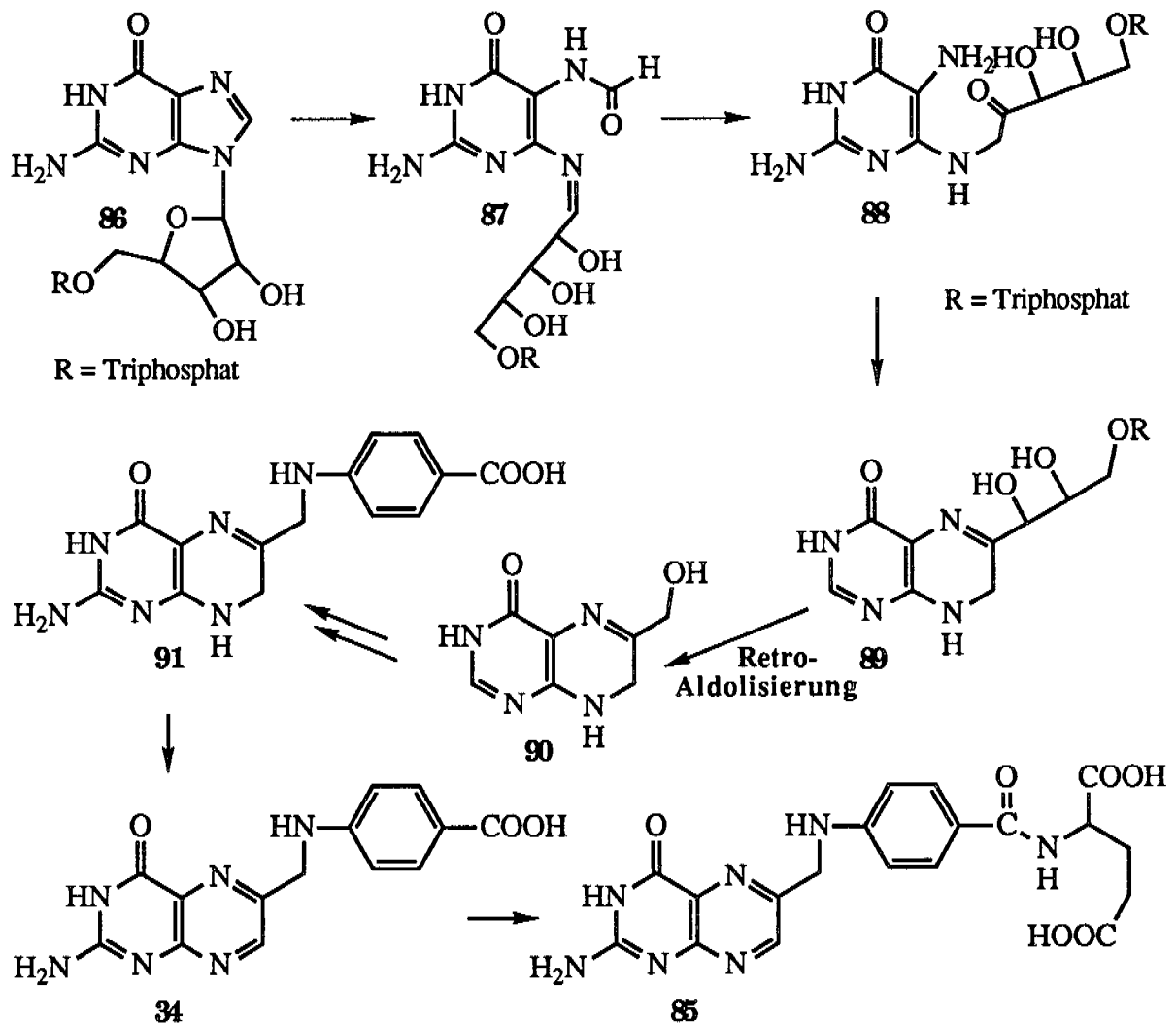


Abbildung 57: Die Biosynthese von Folsäure 85

Potentiell präbiotische Wege zur Folsäure wurden in unserer Gruppe bereits von Trinks [14] gesucht. Erstes Zielmolekül war die "Azafolsäure"<sup>1</sup> 38. Die Hydrolyse davon würde 4-[6'-(2'-Amino-4'-pteridinonyl)methyl]aminobenzoesäure 34, hier auch als Folsäure<sup>1</sup> bezeichnet geben. Selektive Hydrolyse an der Position 4 von 2,4-Diaminopteridinen ist literaturbekannt [33], insbeson-

<sup>1</sup>Zur Nomenklatur: Unter Folsäure 34 wird hier auch die freie Säure ohne Glutaminsäurerest verstanden. Die Azafolsäure 38 ist die korrespondierende Form vor jeglicher Hydrolyse, das heisst Nitril- statt Säurefunktion und Amidfunktion anstelle der Amidfunktion im Pteridinteil.

dere auch von der, an der aromatischen Nitrilgruppe bereits hydrolysierten 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoesäure [34] und analog substituierten Pteridinen [35]. Zu Vergleichszwecken wurde die Azafolsäure **38**, also 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzonitril **38** von Trinks [14] und Dunn [15] nach Vorschriften von Boyle und Pfeleiderer [35], sowie Baugh und Shaw [78] dargestellt (vgl. Abb. 58). Dazu kondensierten sie Tetraaminopyrimidin **15** mit Dihydroxyaceton zum 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92**. Dieses setzten sie mit Brom zum 2,4-Diamino-6-(bromomethyl)pteridin um, das mit 4-Aminobenzonitril **35** zur Azafolsäure **38** reagierte.

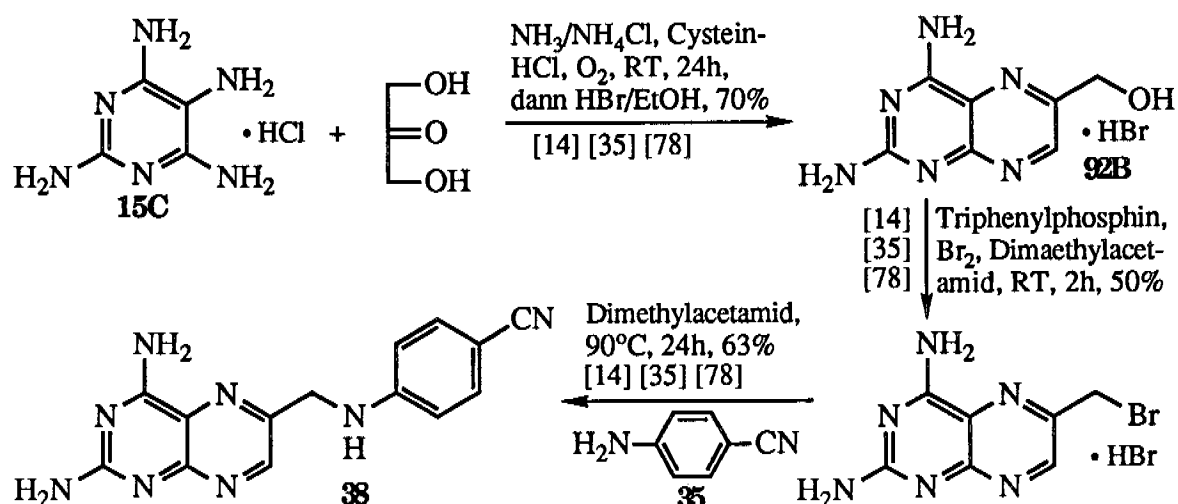


Abbildung 58: Darstellung der Azafolsäure **38** zu Vergleichszwecken von Trinks [14], nach [35] und [78]

Ein bedeutender Schritt zu einem potentiell präbiotischen Bildungsweg für Azafolsäure **38** ist Trinks [14] im Nachweis der Bildung von Tetraaminopyrimidin **15** aus Aminomalonsäuredinitril **2** und Guanidin **8** gelungen (vgl. Abb. 38, S. 64).

Baumann und Staubli [30] haben einen potentiell präbiotischen Zugang zum 4-Aminobenzonitril **35** durch Zyklisieren des Dinitrils **40** gefunden (vgl. Abb. 59).

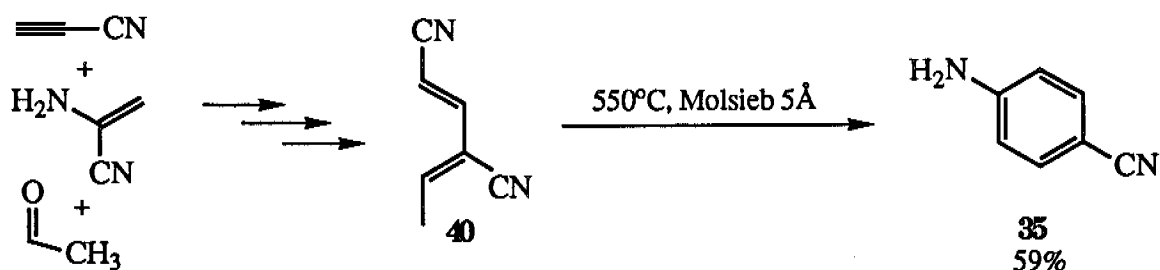


Abbildung 59: Bildungsweg von 4-Aminobenzonitril **35** nach [30]

Trinks [14] zeigte auch, dass Tetraaminopyrimidin **15** mit dem  $\alpha$ -Aminonitril **93** zu den Pteridinen **94** - **96** reagiert (vgl. Abb. 60).

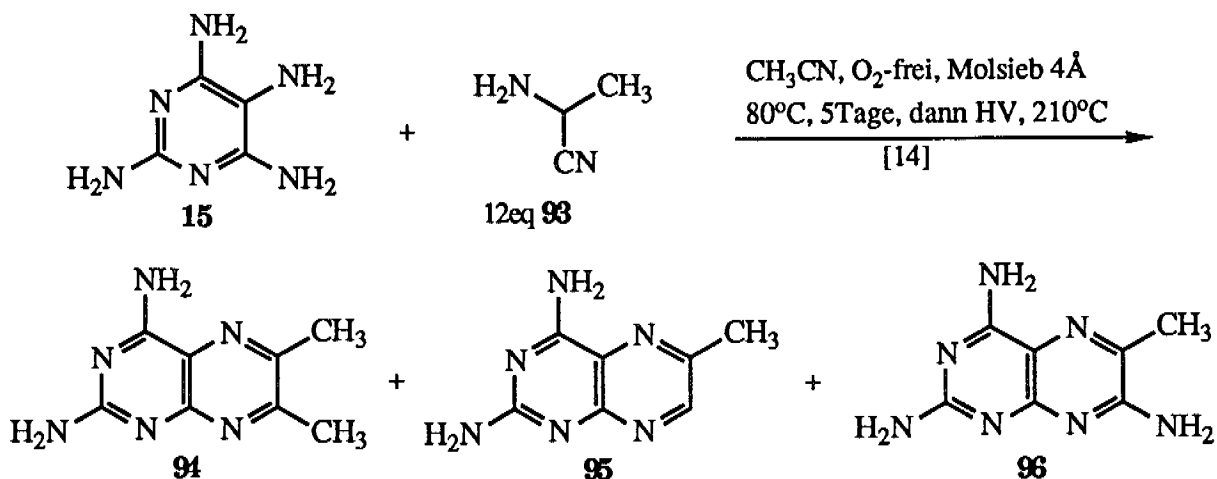


Abbildung 60: Reaktion von Tetraaminopyrimidin **15** mit dem  $\alpha$ -Aminopropionsäurenitril **93** nach [14]

Analog versuchte er die Bildung von Azafolsäure **38** aus Tetraaminopyrimidin **15** und dem modifizierten Aminonitril **97** zu erreichen. Unter verschiedenen Bedingungen waren seine Untersuchungen erfolglos. Als einziges Produkt fand er dabei 2,4-Diaminopteridin **98** in Ausbeuten zwischen 5 und 30% (vgl. Abb. 61).



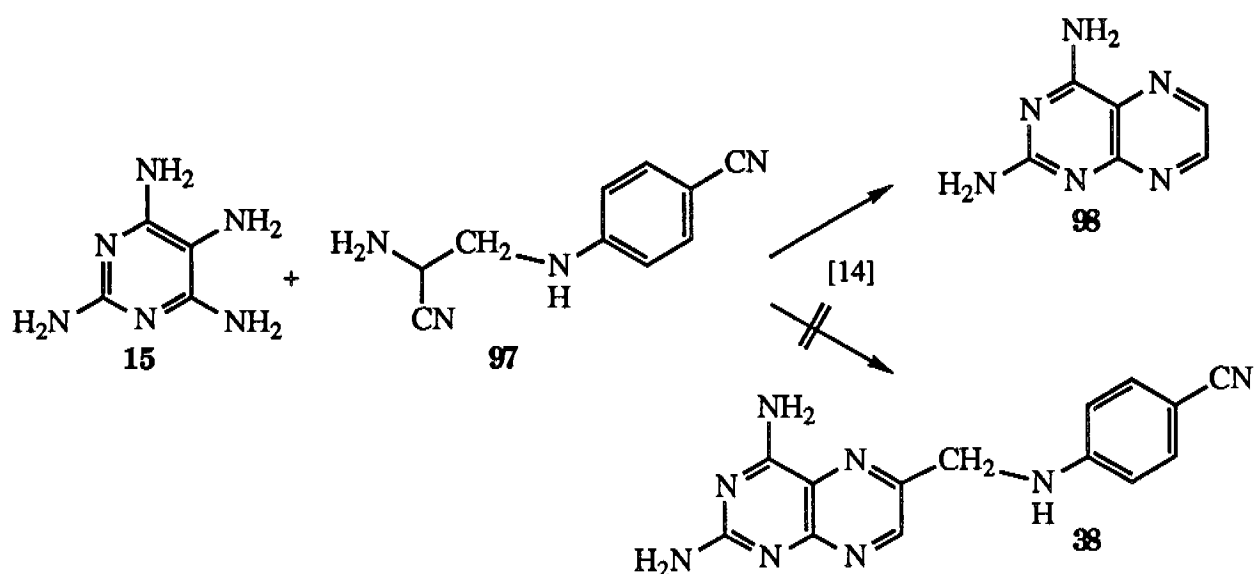


Abbildung 61: Versuch von Trinks [14] zur Bildung von Azafolsäure **38** in Analogie zu Ergebnissen aus anderen Versuchen (vgl. Abb. 60)

Das experimentelle Problem einen potentiell präbiotischen Zugang für Azafolsäure **38** zu finden, erhielt trotz intensiver Suche solange keine Lösung, als am Postulat festgehalten wurde, das mittlere C<sub>3</sub>-Fragment stamme von einem  $\alpha$ -Aminonitril. Als dieses Postulat fallengelassen worden war und stattdessen ein Zucker, Glycerinaldehyd **36**<sup>1</sup> als Ursprung dieses Fragmentes angenommen wurde, stellte sich der Erfolg ein, wie die auf S. 95 und 96 beschriebenen Versuche von Dunn [15] zeigen werden.

Die neue Strategie, die unter dieser Annahme verfolgt wurde, zeigt Abb. 62. Die zuerst eintretende Verknüpfung von Glycerinaldehyd **36** mit 4-Amino-

---

<sup>1</sup>Müller [31] beobachtete das 3-Phosphat von Glycerinaldehyd **38** in einem <sup>1</sup>H-NMR-Experiment nach retro-Strecker-Reaktion am Isomerengemisch von Glycerinaldehydaminonitril-3-phosphat. Dieses  $\alpha$ -Aminonitril stammte aus der Reaktion von Glykolaldehydphosphat mit  $\alpha$ -Cyanoglycin. Das 2-Phosphat von-Glycerinaldehyd **36** wird nach Kittaka [79] und Pitsch [36] aus Glykolaldehydphosphat und Formaldehyd gebildet. Die Hydrolyse dieser beiden Phosphate von Glycerinaldehyd **36** wurde von ihnen nicht untersucht.

benzonnitril **35** hat dabei mit einer Amadori-Umlagerung [80] einherzugehen, um nachher einen passenden Kondensationsbaustein für die Reaktion mit Tetraaminopyrimidin **15** zu liefern.

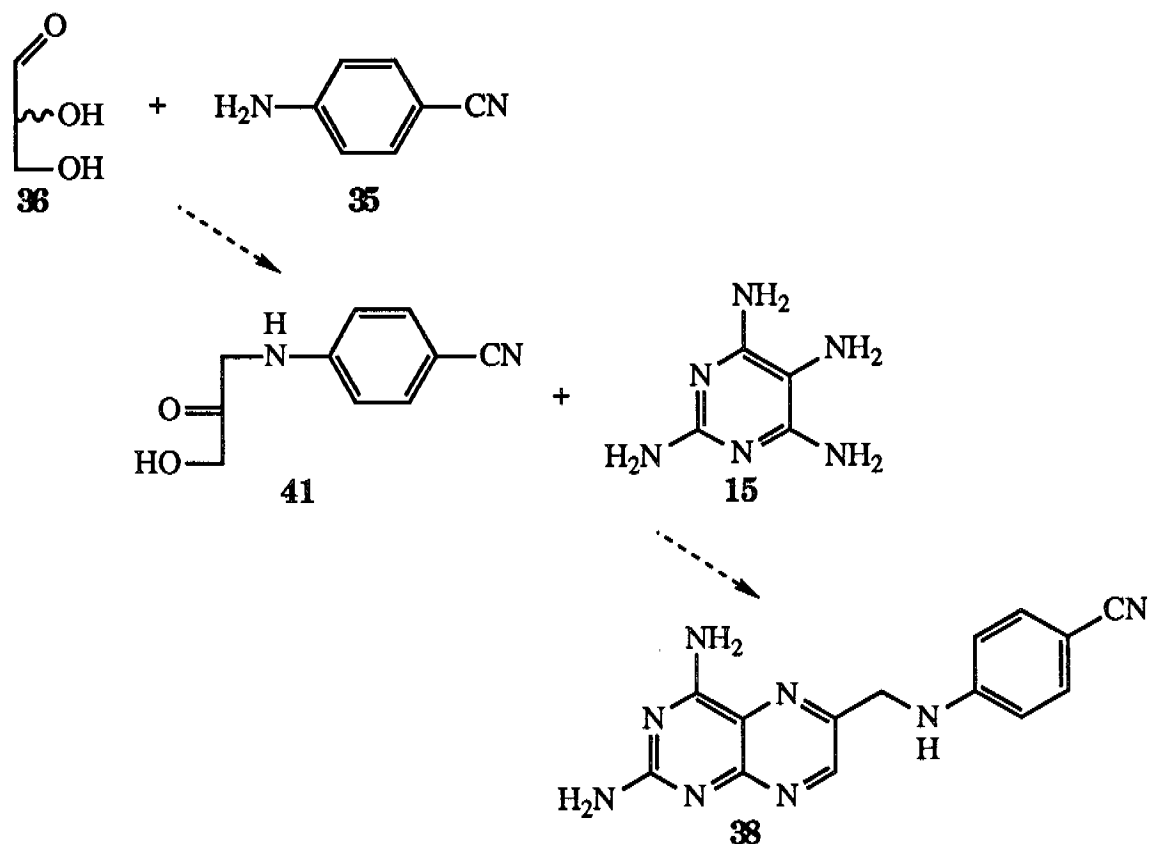


Abbildung 62: Strategie für einen potentiell präbiotischen Bildungsweg von Azafolonsäure **38** als Grundlage der Experimente von Dunn [15]

Erwartungsgemäss ging diese Amadori-Umlagerung mit dem wenig basischen 4-Aminobenzonnitril **35** nicht leicht. In einem Vorversuch mit Glucose - deren Kettenlänge ein Zyklisieren erlaubt - bildete sich das vorgelagerte Glucosylamin, das aber zu keiner nachfolgenden Amadori-Umlagerung zu bringen war. Mit D-Erythrose in siedendem Ethanol wurde aber bereits das entsprechende Amadori-Produkt in 17% Ausbeute isoliert. Auch mit DL-Glyceraldehyd **36** erreichte Dunn [15] Kondensation mit nachfolgender Amadoriumlagerung zum 1-(4-Cyanophenyl)-amino-3-hydroxy-2-propanon **41** in 18% Ausbeute (vgl. Abb. 63). Die Isolierung davon und der Nebenprodukte gelang ihm durch Adsorbieren des Reaktionsgemisches auf Kieselgel und graduelles Eluieren mit Hexan über Dichlormethan zu Ethylacetat.

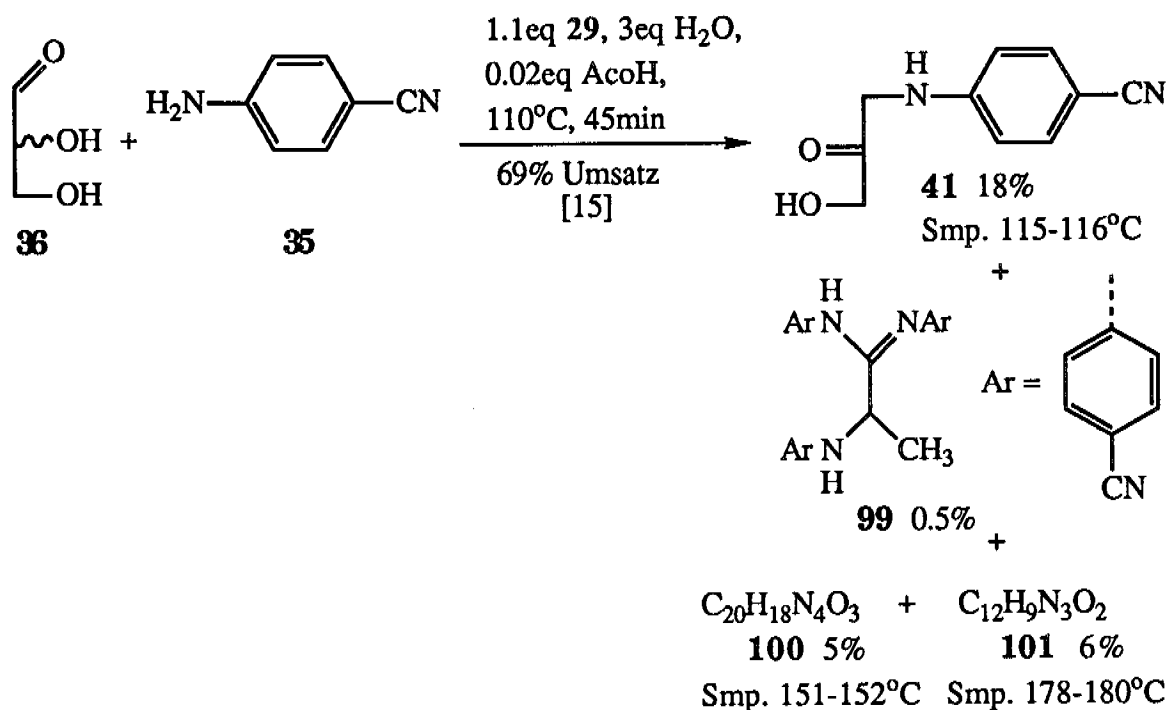


Abbildung 63: Reaktion von 4-Aminobenzonitril **35** mit DL-Glycerinaldehyd **36** nach [15]

Das Amadori-Produkt **41** versuchte Dunn [15] nun in verschiedenen Experimenten mit Tetraaminopyrimidin **15** zu kondensieren. Solange er das Sulfat von **15** davon einsetzte und in situ mit Triethylamin oder Natriumhydroxid deprotonierte, isolierte er nur 2,4-Diaminopteridin **98**, sowie 6- oder 7-Methyl- oder entsprechende Hydroxymethyl-Derivate **92** und **102**. Aber in Experimenten mit - nach Trinks [14] freigesetztem - Tetraaminopyrimidin **15** und **41** in Acetonitril beobachtete er schliesslich die gesuchte Azafolsäure **38**. In einem Experiment, wo er Tetraaminopyrimidin **15** mit 2 Äquivalenten 1-(4-Cyanophenyl)-amino-3-hydroxy-2-propanon **41** in entgastem Acetonitril über 5 Tage bei  $65^\circ\text{C}$  hielt (vgl. Abb. 64), isolierte er Azafolsäure **38** in 22% Ausbeute (alle Ausbeuten nach  $^1\text{H-NMR}$ ) in Gemischen mit 2,4-Diaminopteridin **98** (2%), 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92** (4%) und 2,4-Diamino-7-(hydroxymethyl)pteridin **102** (2%). Die Isolierung dieser Produktgemische gelang ihm durch Adsorbieren des Reaktionsgemisches auf Kieselgel und graduelles Eluieren mit Hexan über Dichloromethan, Ethylacetat zu Methanol. Mit der gleichen Methode isolierte er in einem zweiten, analogen Ansatz - den er aber 20 Tage bei Raumtemperatur reagieren liess - reine Azafolsäure **38**, deren UV- und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach Abb. 65 - 68 identisch sind mit denen von authentischem **38** aus der unabhängigen Synthese.

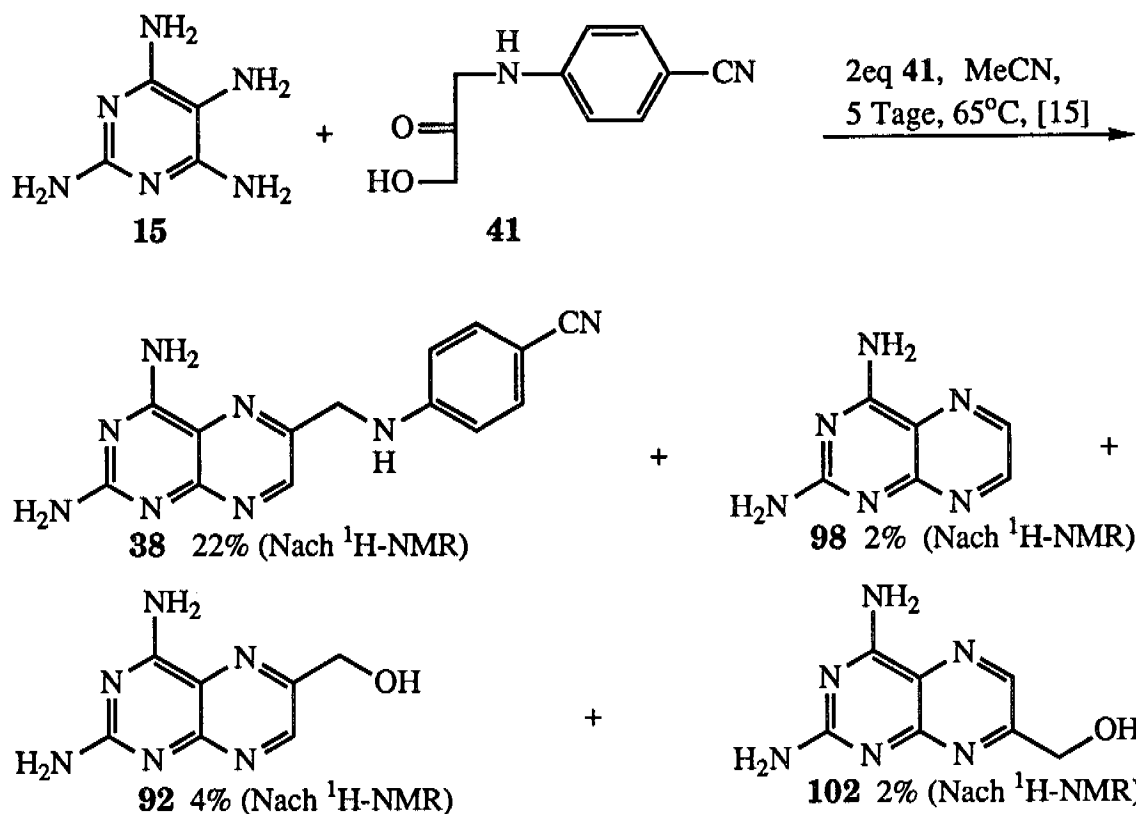


Abbildung 64: Reaktion von freiem Tetraaminopyrimidin **15** mit 1-(4-Cyanophenyl)-amino-3-hydroxy-2-propanon **41** in Acetonitril bei  $65^\circ\text{C}$  über 5 Tage: Azafolsäure **38** in 22% Ausbeute

Bemerkenswert an diesem Schritt zur Bildung von Azafolsäure **38** ist, dass dabei die isomere Azafolsäure mit der Substitution in Position 7 (analog wie Alkohol **102**) nicht beobachtet wurde. Das heisst, dass die Kondensationsreaktion selektiv mit dem Angriff der 5-Aminogruppe von Tetraaminopyrimidin **15** auf den C-2-Kohlenstoff von **41** beginnt und dann die 4- (oder äquiv. 6-) Aminogruppe den Ring schliesst.

Wenn wir die Chemo-Synthese (vgl. S. 91) von Azafolsäure **38** mit dem Dunn'schen Bildungsweg vergleichen, fällt auf, dass die Edukte beinahe dieselben sind. Es sind dies Tetraaminopyrimidin **15**, 4-Aminobenzonitril **35**, im Falle der Chemo-Synthese Dihydroxyaceton und bei Dunn Glycerinaldehyd **36**. Die letzten beiden Triosen sind aber äquivalent, da sie miteinander im Gleichgewicht stehen können. Der Unterschied zwischen den beiden Zugängen liegt einmal in der Reihenfolge der Verknüpfung des  $\text{C}_3$ -Bausteines mit den beiden flankierenden Teilen. Dann kommt bei der Chemosynthese vor der Einführung von 4-Aminobenzonitril **35** zur Aktivierung eine

Bromierung vor, die keinesfalls potentiell präbiotisch sein kann. Das Wesentliche am Dunn'schen Bildungsweg ist schliesslich, dass die Einführung von 4-Aminobenzonitril **35** rein thermisch, also potentiell präbiotisch passiert.

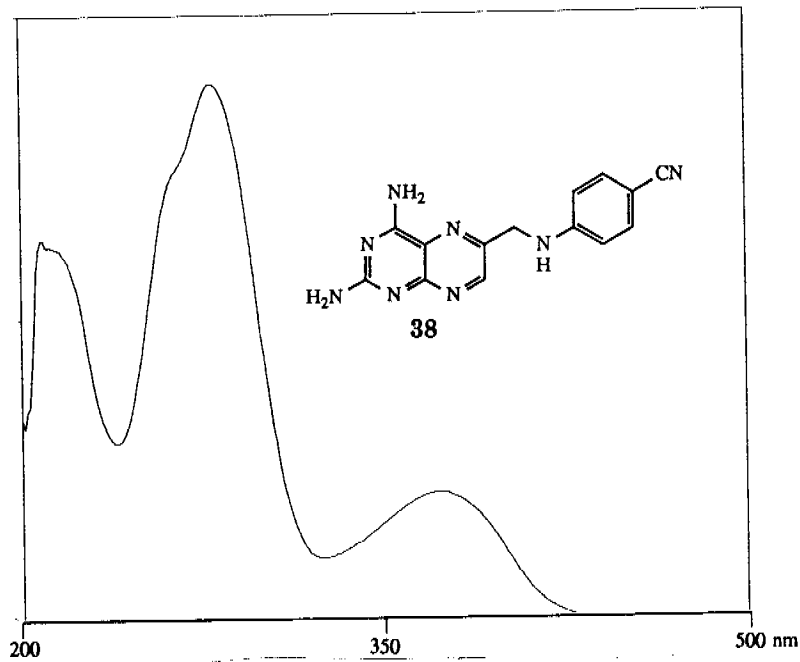


Abbildung 65: UV-Spektrum von Azafolsäure 38 mit Glycerinaldehyd als C<sub>3</sub>-Baustein (analog wie in Abb. 64), aufgenommen in methanolischem NaOH 0.01M

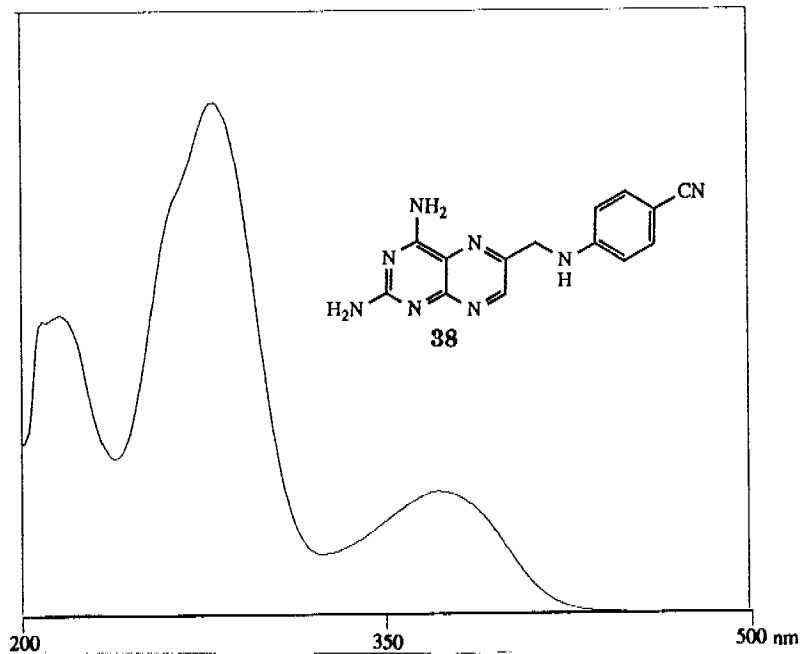


Abbildung 66: UV-Spektrum von Azafolsäure 38 aus unabhängiger Synthese mit Dihydroxyaceton als C<sub>3</sub>-Baustein (vgl. S. 91), aufgenommen in methanolischem NaOH 0.01M

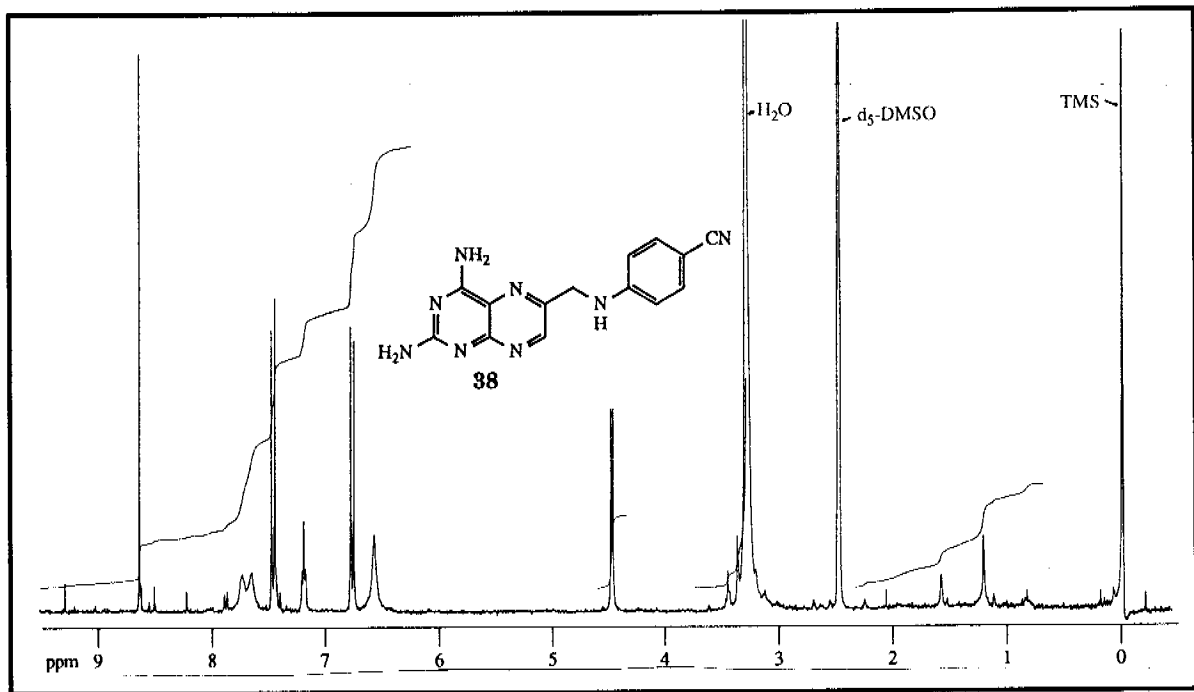


Abbildung 67: 300MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Azafolsäure **38** mit Glycerinaldehyd als  $\text{C}_3$ -Baustein (analog wie in Abb. 64), aufgenommen in  $\text{d}_6\text{-DMSO}$

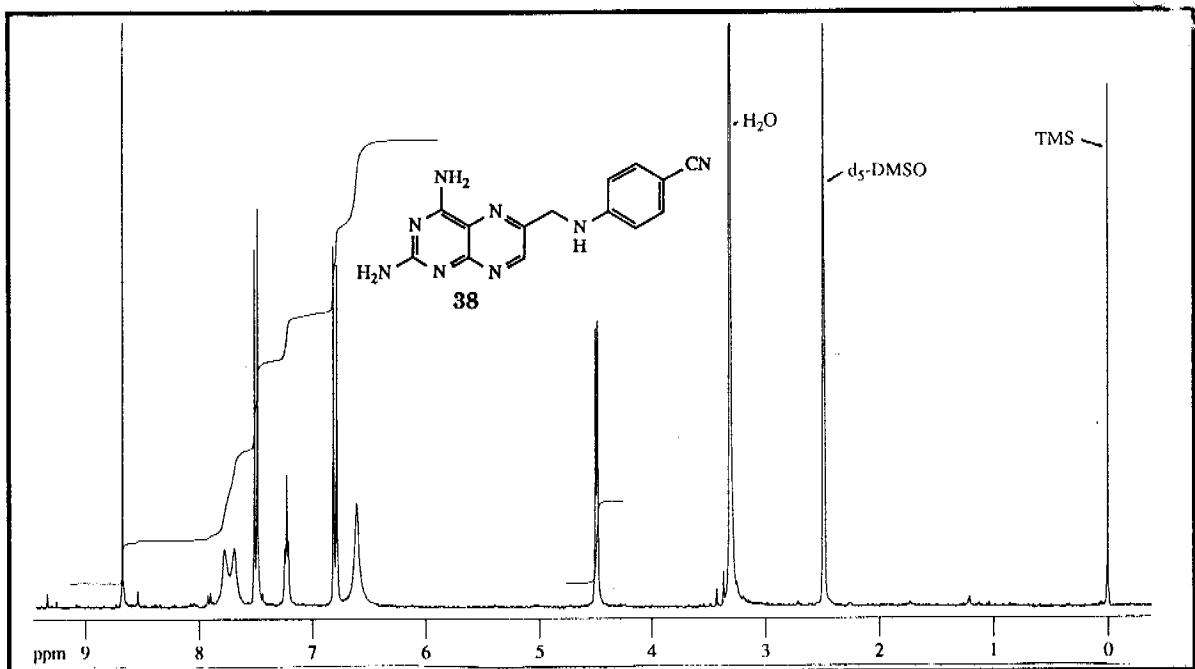


Abbildung 68: 300MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Azafolsäure **38** aus unabhängiger Synthese mit Dihydroxyaceton als  $\text{C}_3$ -Baustein (vgl. S. 91), aufgenommen in  $\text{d}_6\text{-DMSO}$

Ausgehend von Azafolsäure **38** zeigte Peng [29] die Hydrolyse in 0.5M Kalilauge bei 100°C unter Stickstoff über 30h zur Folsäure **34** in 66% Ausbeute (vgl. Abb. 69). **34** konnte aus der Reaktionslösung durch Ansäuern gefällt werden.

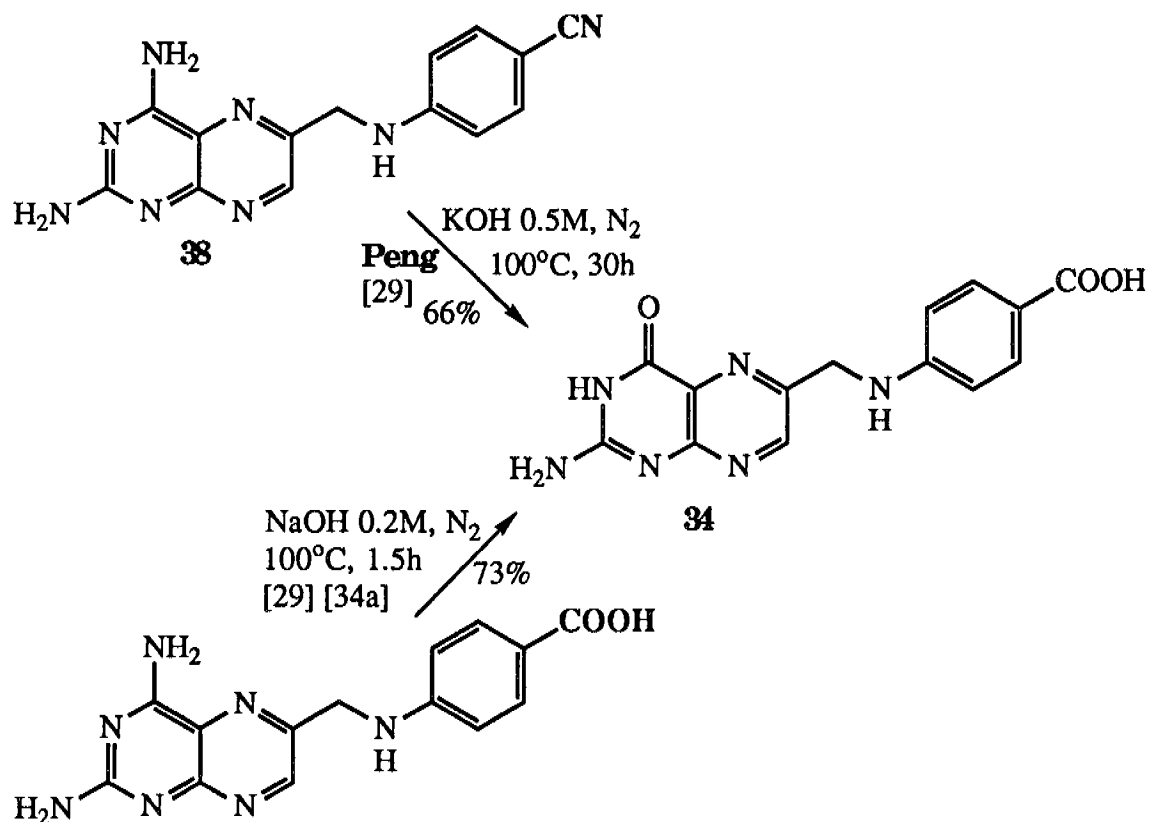


Abbildung 69: Hydrolyse der Azafolsäure **38** zur Folsäure **34** nach Peng [29] oben und zum Vergleich die literaturbekannte [34a] Hydrolyse der 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoessäure zur Folsäure **34** unten

Zum Vergleich hydrolysierte sie auf die selbe Weise 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoessäure, was literaturbekannt [34a] zur Folsäure **34** führt. Die UV-, <sup>1</sup>H-NMR- und IR-Spektren der beiden Hydrolyseprodukte sind identisch, wie die Gegenüberstellung in den Abb. 70 - 75 zeigt.



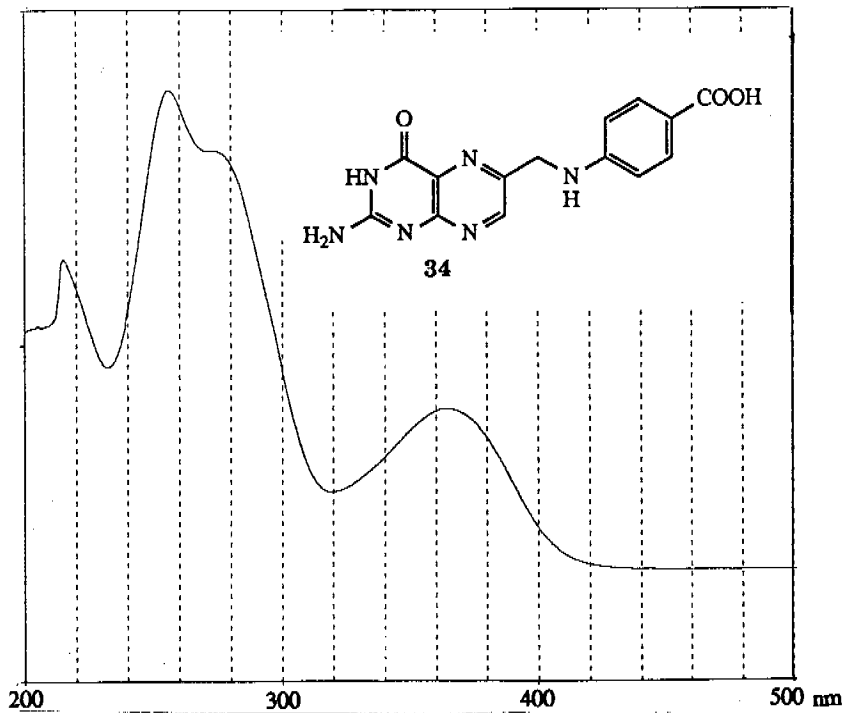


Abbildung 70: UV-Spektrum von Folsäure 34 aus der Hydrolyse von Azafolsäure 38, aufgenommen in Natronlauge 0.1M

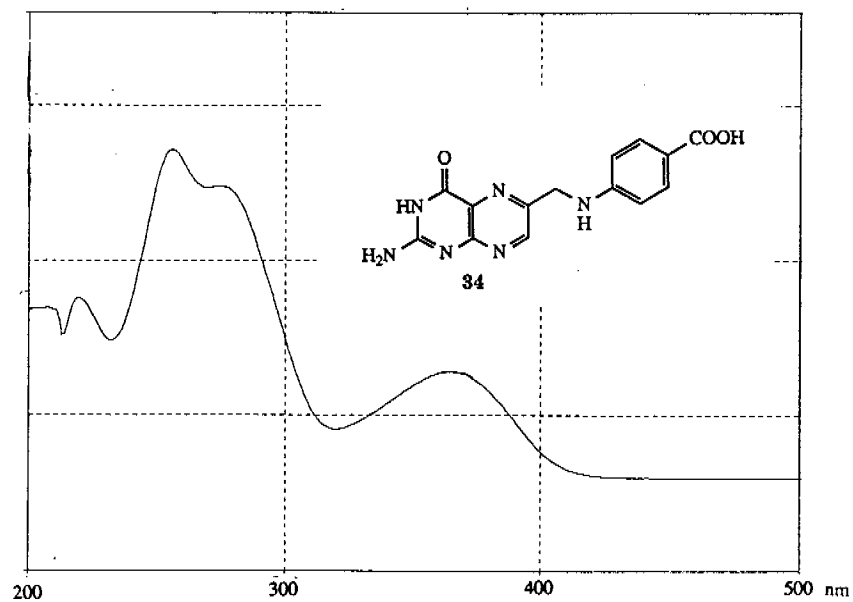


Abbildung 71: UV-Spektrum von Folsäure 34 aus der Hydrolyse von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoesäure, aufgenommen in Natronlauge 0.1M

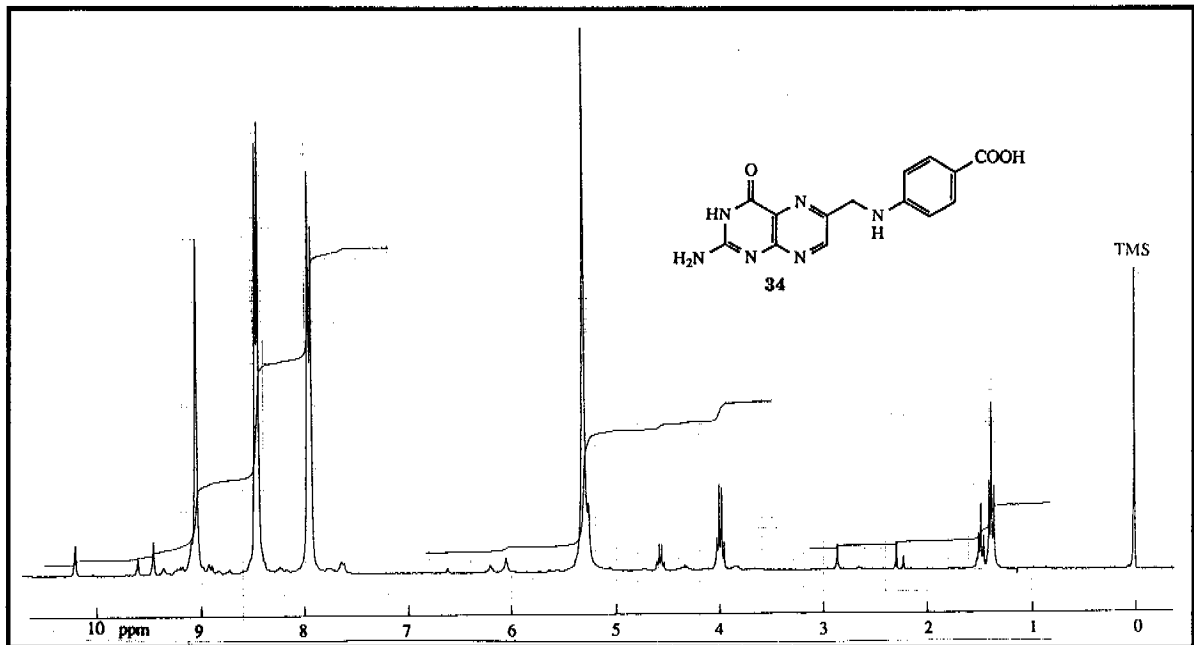


Abbildung 72: 300MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Folsäure **34** aus der Hydrolyse von Azafolsäure **38**, aufgenommen in  $d_6$ -DMSO

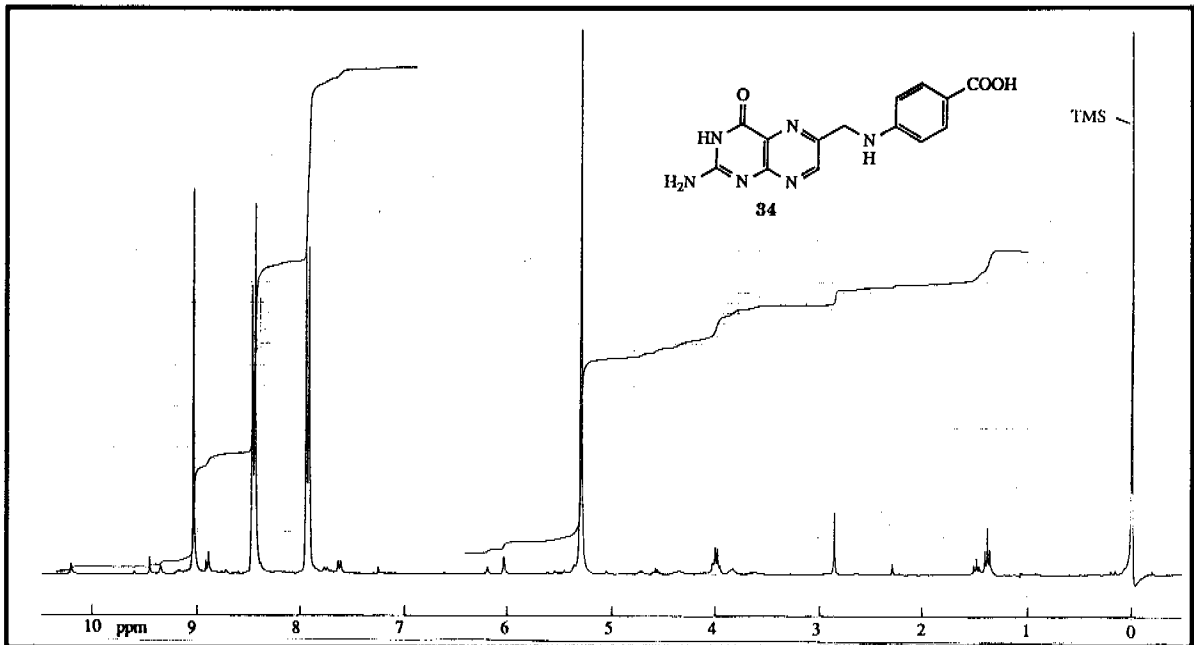


Abbildung 73: 300MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Folsäure **34** aus der Hydrolyse von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoesäure, aufgenommen in  $d_6$ -DMSO

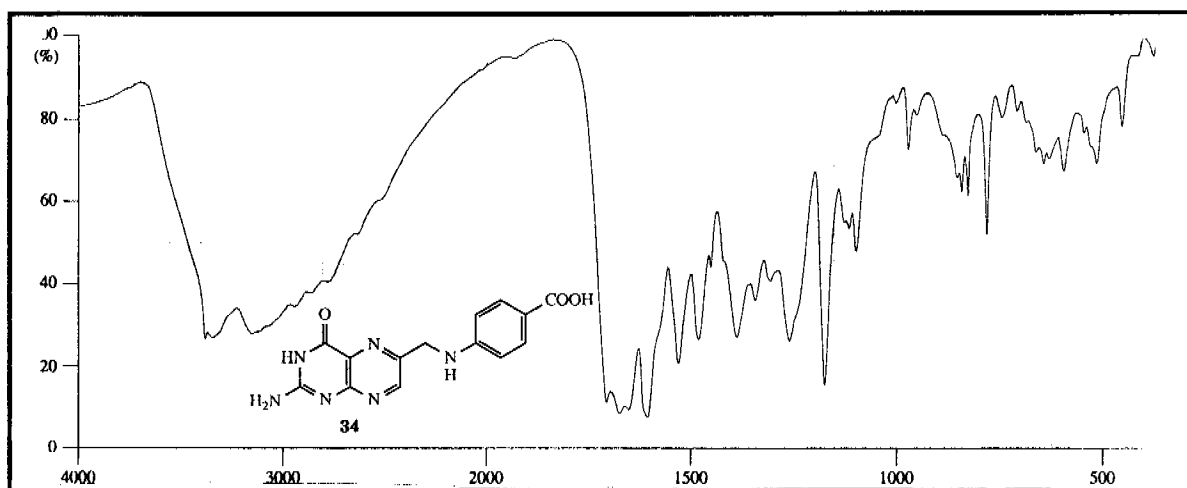


Abbildung 74: IR-Spektrum von Folsäure 34 aus der Hydrolyse von Azafolsäure 38, aufgenommen in KBr

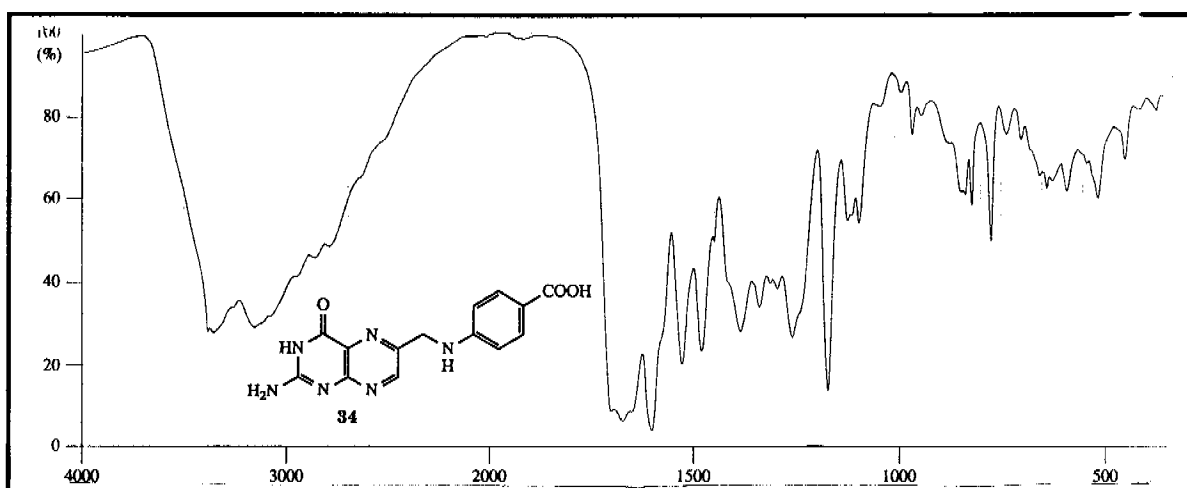


Abbildung 75: IR-Spektrum von Folsäure 34 aus der Hydrolyse von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoessäure, aufgenommen in KBr

Nachdem in dieser Arbeit ein ähnlicher, elementarer Zugang zu 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** wie der Trink'sche Zugang zum Tetraaminopyrimidin **15** gefunden wurde, ist es naheliegend diesen äquivalent zur Folsäure **34** hydrolysierten Baustein zusammen mit den ebenfalls elementaren Bausteinen Glycerinaldehyd **36** und 4-Aminobenzoesäure **39** mit der Dihydrofolsäure  $H_2$ -**34** in Beziehung (vgl. Abb. 76) zu setzen, womit diese auch als elementar beschrieben wird.

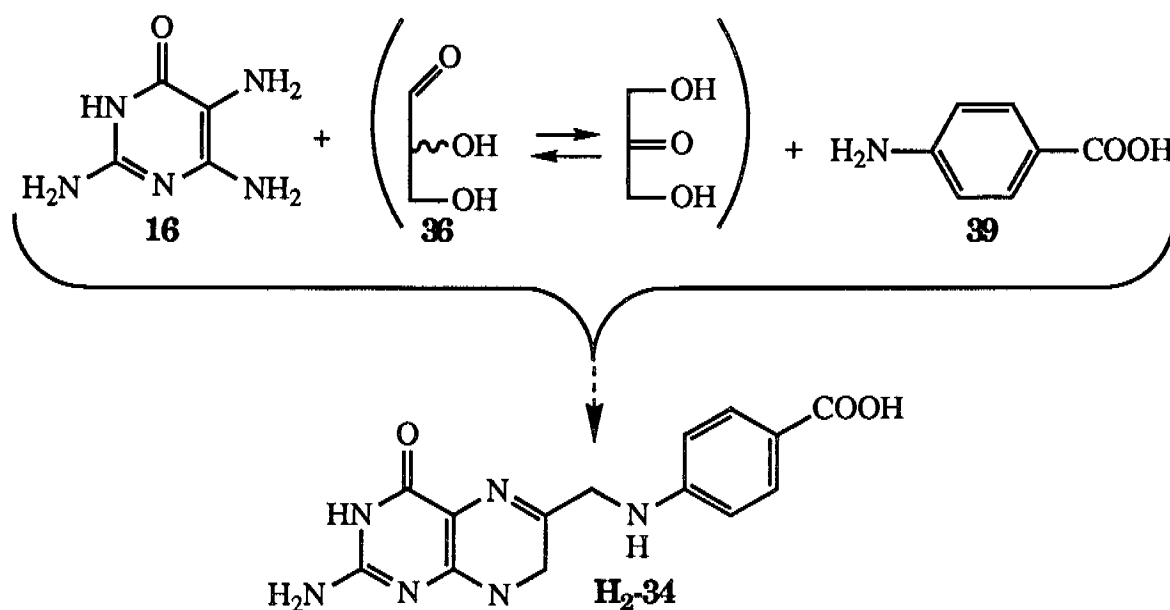


Abbildung 76: Dihydrofolsäure  $H_2$ -**34**, eine elementare Struktur aus elementaren Bausteinen mittels elementaren Reaktionsschritten (grundsätzlich) synthetisierbar

Eine experimentelle Untersuchung obiger Beziehung zwischen  $H_2$ -**34** und seinen elementaren Bausteinen ist nicht durchgeführt worden. Dunn [15] stellte aber bereits Vorversuche zur Kondensation von **16** mit 1-(4-Cyanophenyl)-amino-3-hydroxy-2-propanon **41** an. Diese verliefen leider erfolglos, wobei er allerdings **16** in situ aus seinem Sulfat freisetzte, eine Methode, die bereits bei der Tetraaminopyrimidinkondensation nicht erfolgreich war (vgl. S. 95). **16** kann aber wegen mangelnder Löslichkeit - insbesondere in Methanol - nicht wie Tetraaminopyrimidin **15** aus seinem Sulfat nach der Trink'schen Methode [14] freigesetzt werden.

## 8. VERSUCHE ZUR BILDUNG DES CHROMOPHORS VON F<sub>420</sub> (METHYLDEAZAISOALLOXAZOLIDIN)

Ein zu Beginn dieser Arbeit formuliertes Ziel war ein potentiell präbiotischer Bildungsweg zu 8-Hydroxy-10-D-ribityl-5-deazaisoalloxazin **30** (vgl. Abb. 78), dem Chromophorteil des 1972 entdeckten [27] und 1978 strukturell aufgeklärten [28] F<sub>420</sub> **31**, einem Redox-Kofaktor methanogener Bakterien (vgl. Abb. 77).

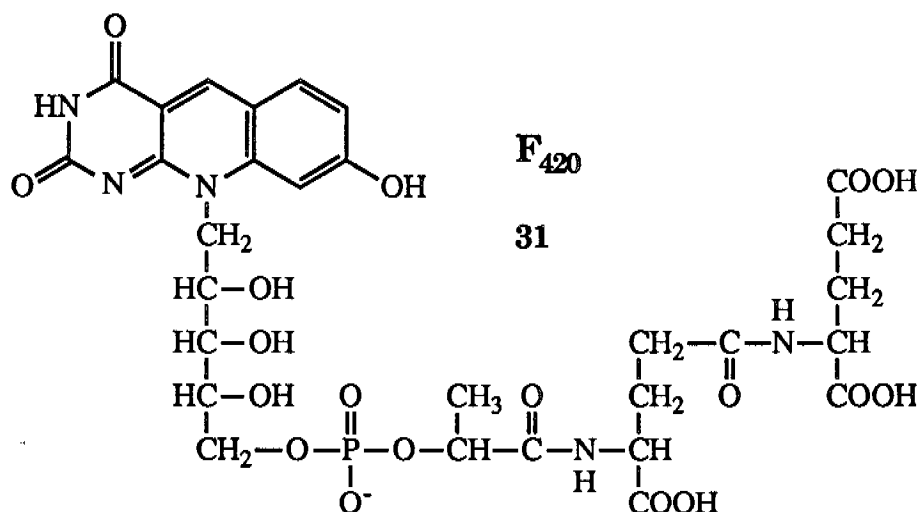


Abbildung 77: Struktur von F<sub>420</sub> **31**, einem Redox-Kofaktor methanogener Bakterien ([27] und [28])

Den hypothetischen Mechanismus, der hinter unserer Strategie stand, zeigt Abb. 78. Aus 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** sollte sich mit 4-Hydroxybenzaldehyd **103** das Chromophorsystem von F<sub>420</sub> (8-Hydroxy-10-D-ribityl-5-deazaisoalloxazin **30**) bilden. Analog sollte in Modellversuchen das schon von Strupp [17] für solche in der Riboflavinreihe verwendete 6-Methylamino-5-aminouracil **33** ein Modell-Chromophorsystem von F<sub>420</sub> (8-Hydroxy-10-methyl-5-deazaisoalloxazin **32**) ergeben.

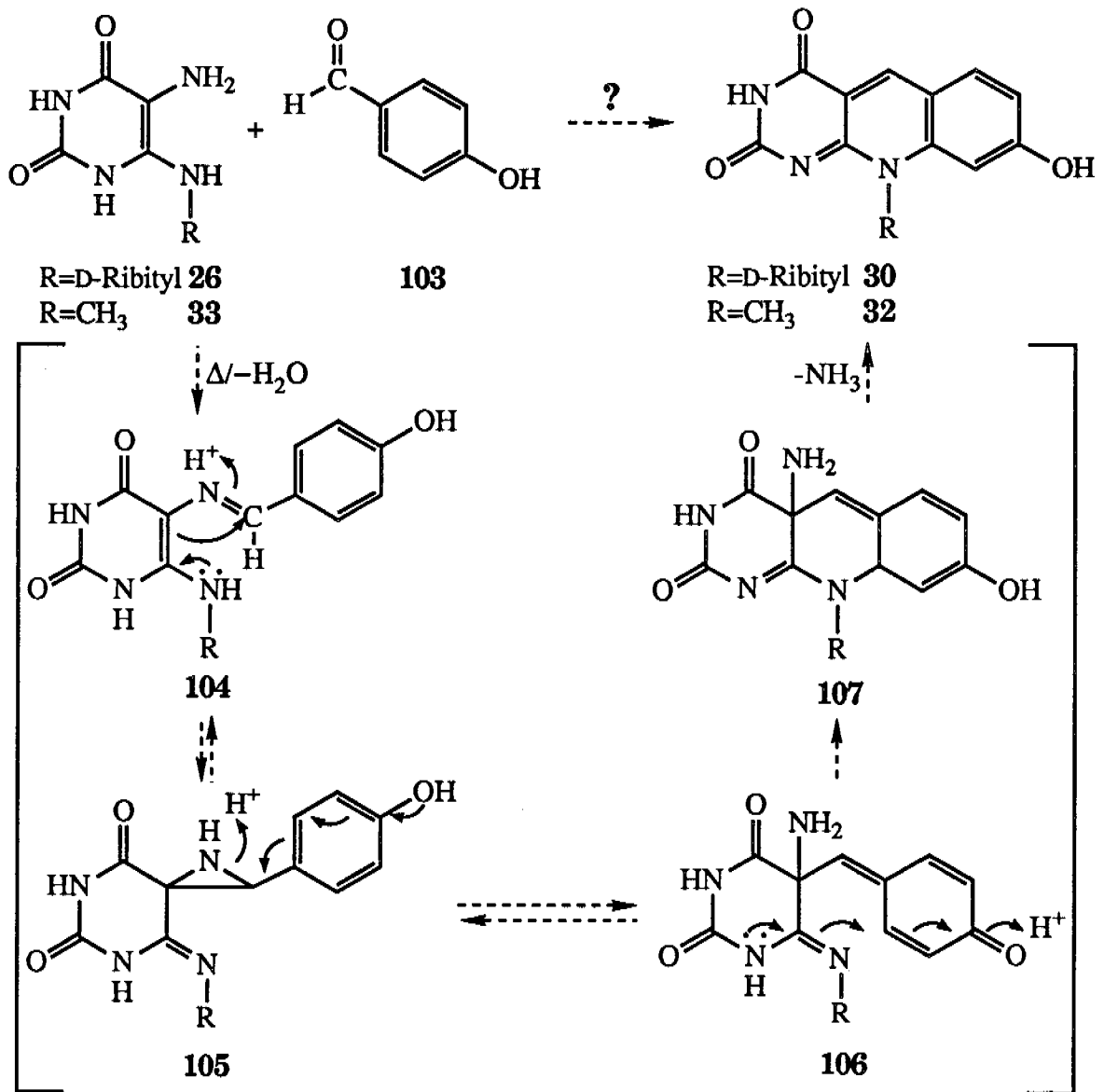


Abbildung 78: Hypothetischer Bildungsweg für 8-Hydroxy-10-methyl-5-deazaisoalloxazin **32** aus 6-Methylamino-5-aminouracil **33** und 4-Hydroxybenzaldehyd **103** als Modellreaktion, beziehungsweise dem schliesslich gesuchten 8-Hydroxy-10-D-ribityl-5-deazaisoalloxazin **30** aus 6-Ribitylamino-5-aminouracil **26** und 4-Hydroxybenzaldehyd **103**

Experimentell untersucht wurde ausschliesslich die Modellreaktion, nachdem 6-Methylamino-5-aminouracil **33** nach einer Vorschrift von Wood [81] synthetisiert worden war. In der Schmelze von freiem **33** in 4-Hydroxybenzaldehyd **103** bei 135-140°C wurde nach 20h und Absublimieren von überschüssigem **103** im HV gemäss <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum fast vollständige Umsetzung zum Imin **104** (R=CH<sub>3</sub>) beobachtet (vgl. Abb. 79). Auch gemäss EI-MS

war unter Wasserverlust ein Kondensationsprodukt aus **33** und **103** entstanden. IR- und UV-Spektren waren in Übereinstimmung mit der Struktur **104**.

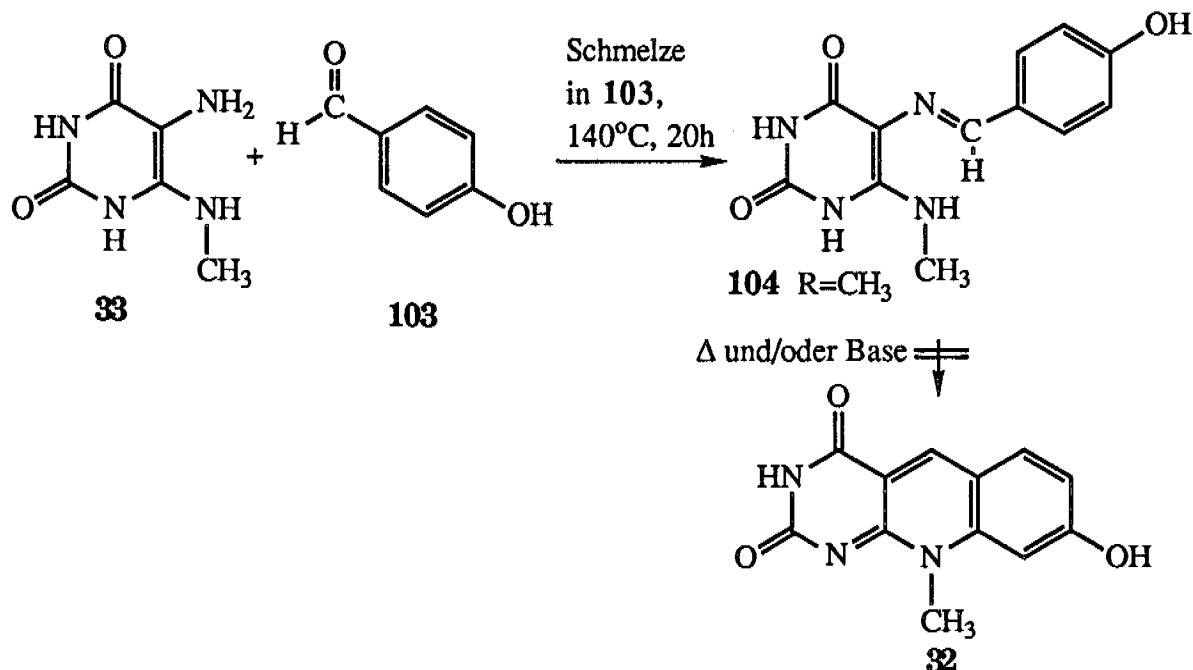


Abbildung 79: Kondensationsprodukt **104** aus 6-Methylamino-5-aminouracil **33** und 4-Hydroxybenzaldehyd **103**. Die Weiterreaktion zu 8-Hydroxy-10-methyl-5-deazaisoalloxazin **32** gemäss Abb. 76 konnte nicht erzwungen werden

Dieses Imin **104** (R=CH<sub>3</sub>) wurde nun verschiedenen Bedingungen unterworfen, um die Folgereaktionen nach Abb. 78 auszulösen. Pyrolyse bis 270°C führte langsam zur Verkohlung. Auf dem DC waren jeweils Spuren fluoreszierender Produkte - wie sie schon bei wenig Rest-Sauerstoff aus **33** entstehen - zu erkennen. Sie waren allerdings Dickschicht-chromatographisch nicht in wägbarer Menge isolierbar und zeigten im UV nicht das für **32** erwartete Spektrum mit einem Maximum um 420nm. In TBD (1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]-5-undecen) über 2h auf 200°C gehalten, verfärbte sich das Imin **104** (R=CH<sub>3</sub>) dunkelbraun. Das UV-Spektrum einer Lösung davon zeigte keine Absorption über 350nm. Auch in Cinchonidin über 4h bei 210°C geschmolzen entstand aus dem Imin **104** (R=CH<sub>3</sub>) nach DC und UV kein **32**.

Da das Imin **104** (R=CH<sub>3</sub>) nicht in die gewünschten Richtung reagierte - die Weiterreaktion hätte ja gemäss Abb. 78 mit einem 1,3-Enaminangriff beginnen sollen - wurde versucht das entsprechende Imin aus Tetraaminopyri-

midin **15** und 4-Hydroxybenzaldehyd **103** zu bilden. Dessen 6- oder identische 4-Aminogruppe ist weniger desaktiviert für einen solchen Enaminangriff. Die Iminsynthese gelang mit der Neutralisation einer äquimolaren, wässrigen Suspension von Tetraaminopyrimidinsulfat **15S** und 4-Hydroxybenzaldehyd **103**. Das Imin konnte abfiltriert werden und zeigte in den IR-, UV-, MS-,  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren die erwarteten Eigenschaften. Die Pyrolyse bis  $280^\circ\text{C}$  führte wie oben langsam zur Verkohlung, das DC zeigte dabei Spuren von fluoreszierenden Produkten. Sie waren Dickschicht-Chromatographisch nicht in ausreichender Menge für ein UV-Spektrum isolierbar.



## 9. SCHLUSSBEMERKUNGEN UND AUSBLICK

Potentiell präbiotische Bildungswege für die Naturstoff-relevanten Aminopyrimidine, Aminopurine und Aminopteridine, sowie ihren partiell hydrolysierten Formen sind durch diese und andere Arbeiten in unserer Gruppe und anderswo experimentell gezeigt worden. Bei den Hydrolysen bilden sich interessanterweise bevorzugt die natürlichen Formen. Die Bildungswege, die sich in dieser Arbeit entweder als schwierig (oder nicht beobachtet) oder aber als einfach erwiesen haben, geben im Nachhinein neue Anregungen zu bereits gemachten Experimenten. Wie bereits in Kapitel 7 besprochen, könnte die Bildung von Folsäure **34** nach Dunn und Peng ([15] [29]) statt über Tetraaminopyrimidin **15** und 4-Aminobenzonitril **35** zur Azaform **38** und finale Hydrolyse auch über das, in dieser Arbeit als analog zugänglich erkannte 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** und 4-Aminobenzonitril **35** oder bereits 4-Aminobenzoessäure **39** direkt zur Folsäure **34** versucht werden (vgl. Abb. 80).

Dunn [15] untersuchte bereits erfolglos die Reaktion zwischen 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** und 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon-sulfat-hydrat **16S**. Allerdings hatte er Tetraaminopyrimidinsulfat **15S** auch zuerst in die freie Base **15** überzuführen, bevor die analoge Reaktion Erfolg zeigte. Aus **16S** kann allerdings **16** wegen mangelnder Löslichkeit - insbesondere in Methanol - nicht wie Tetraaminopyrimidin **15** aus **15S** nach der Trinks'schen Methode [14] freigesetzt werden.

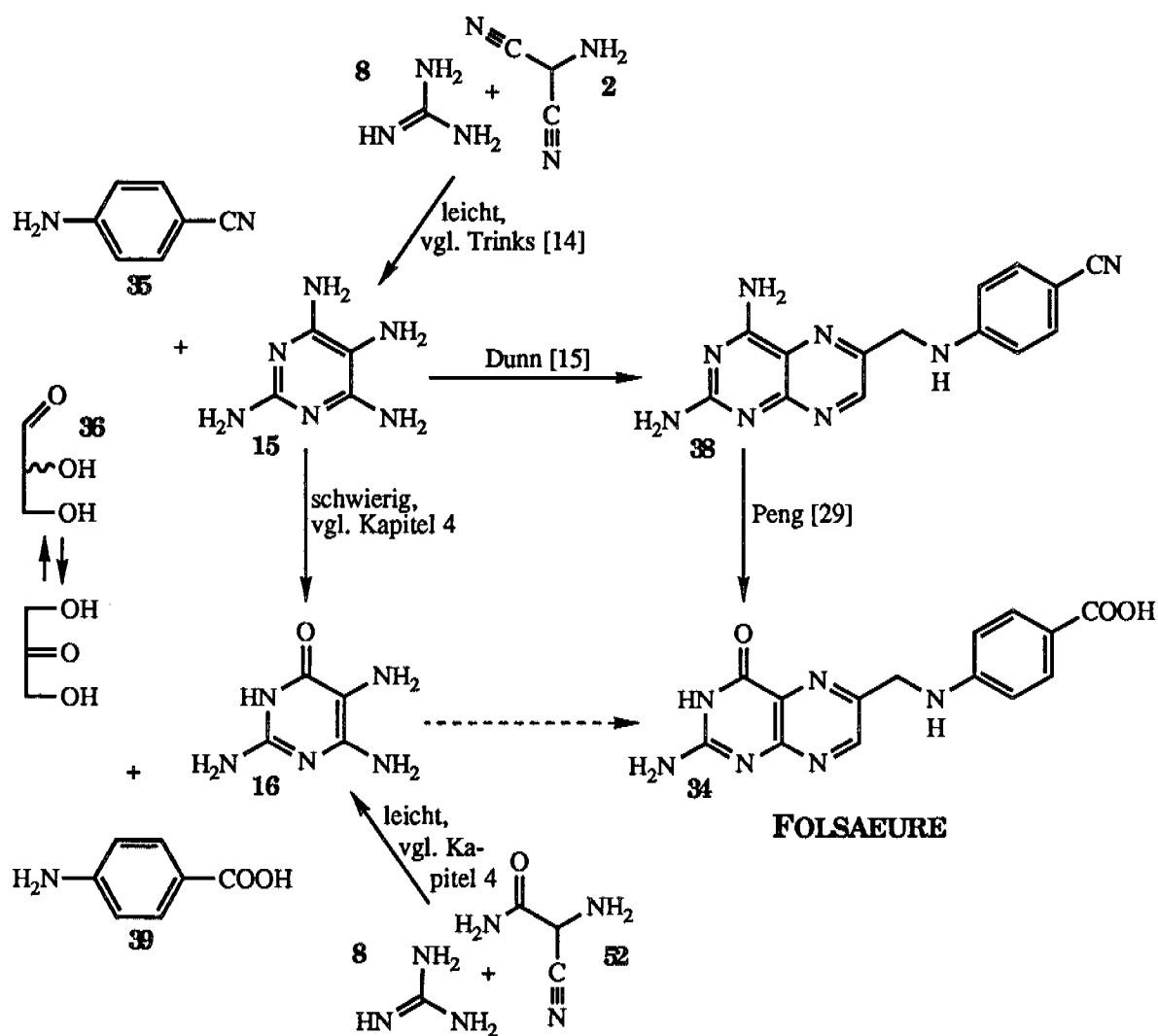


Abbildung 80: Zu versuchende, direktere Bildung von Folsäure 34 aus dem, aus azyklischen Vorläufern zugänglichen 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon 16 und 4-Aminobenzonitril 35 oder bereits 4-Aminobenzoesäure 39

Bei den Purinen und Pyrimidinen ist das zentrale, noch verbleibende Problem die Verknüpfung mit Zuckern, insbesondere Ribose zu Nucleosiden einerseits und zu 6-Ribitylamino-5-aminouracil 26 andererseits. Beim letzteren kommt noch die Erfordernis einer gleichzeitigen, rahmengerechten Reduktion dazu. Aber auch die formal einfacher verlaufende, rahmengerechte Nucleosidierung der Purine und Pyrimidine bietet Probleme und entsprechend wenig ist über sie publiziert worden. Die Bildung der verbreiteten, natürlichen Purinnucleoside  $\beta$ -Adenosin und  $\beta$ -Guanosin in geringer Ausbeu-

te wurde von Fuller, Sanchez und Orgel [82] aus erhitzten, trockenen Gemischen der freien Basen und Ribose **25** in Gegenwart von  $Mg^{2+}$  und anorganischen Polyphosphaten berichtet. In eigenen Versuchen ausgehend von Adenin **42**, Guanin **20** und Isoguanin **21** mit Alloose, gab die analoge Reaktion keine entsprechenden  $\beta$ -Nukleoside in detektierbarer Ausbeute. Untersucht wurden die Reaktionen mit einer empfindlichen HPLC-Methode und authentischen Produkten, die zu anderen Zwecken von Fischer, Helg und Giger [83] in unserem Laboratorium hergestellt worden waren.

Für die natürlich vorkommenden Pyrimidinnukleoside wurde von Sanchez und Orgel [84] ein interessanter Zugang gefunden aus D-Ribose, Cyanamid und Cyano-Acetylen. Dabei kondensiert Ribose **25** zuerst mit der Aminogruppe von Cyanamid **7** und erst nachher wird der Pyrimidinring mit Cyanoacetylen vervollständigt. Dieses Vorgehen könnte vielleicht auch bei den Purinen noch deutlichere Erfolge bringen, sind doch die bisherigen Versuche im wesentlichen einfach chemomimetisch: Bei der konvergenten Chemosynthese von Polynukleotidsträngen werden partiell geschützte Zucker- und Basenbausteine kondensiert, die Nukleoside selektiv entschützt, zu Phosphoramiditen phosphoryliert und diese in Syntheseautomaten zu den gewünschten Strängen verknüpft. Bei diesem Ablauf können Bausteine einzeln variiert werden und dabei mit dieser allgemeinen Methode trotzdem schnell, weil halbautomatisch zu Polynukleotidsträngen kombiniert werden. Die Bildung von permutativ differenzierten Polynukleotidsträngen mit allen möglichen Zucker- und Baseneinheiten kann aber nicht zum Vorteil von entstehenden Lebensformen mit dem Bedarf nach einem zuverlässigen Informationsspeicher gewesen sein. Die Lösung für die Frage, wieso die Natur Ribose **25**, resp. 2-Deoxyribose, sowie hauptsächlich die vier (oder fünf) Basen gewählt hat, liegt vielleicht im Vorteil einer kooperativen Entstehung der Bausteine und Stränge oder sogar der Doppelstränge. Ob solche Wechselwirkungen die gewählten Strukturen beeinflussen, ist Gegenstand weiterer Arbeiten in unserer Gruppe.

In einfacheren Experimenten wurde im Rahmen dieser Arbeit die mögliche Bildung von  $\beta$ -Xanthosin **83** aus 5,6-Diaminouracil(-sulfat) **18(S)**, Ribose **25** und Formamid **5** zu untersucht. Robins und Mitarbeiter [19] erhielten aus **18S** in Formamid nach 25min bei über  $160^{\circ}C$  Xanthin **22** in 76% Ausbeute. Würde also Diaminouracil **18** zuerst mit Ribose **25** kondensieren und erst

dann zyklisieren, erhielt man Xanthosin **83**, wobei sich natürlich noch mehrere andere Isomere bilden könnten neben  $\beta$ -Xanthosin **83** (vgl. Abb. 81).

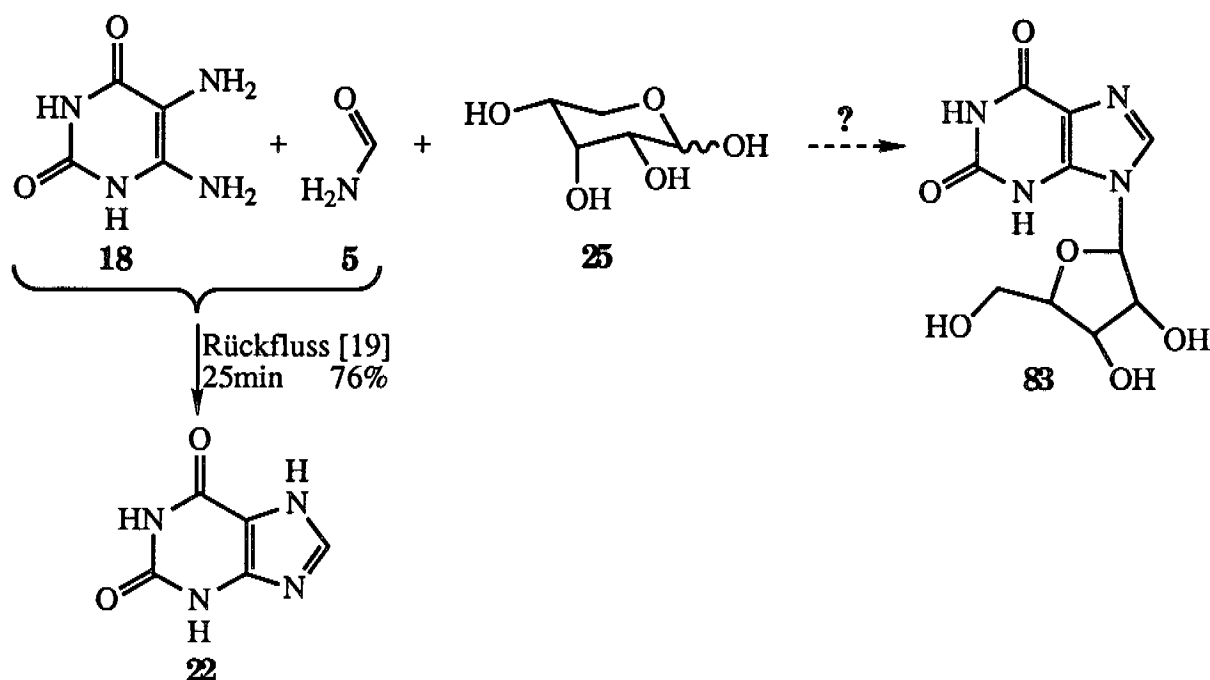


Abbildung 81: Mögliche Alternative zur direkten Nukleosidierung von Xanthin **22**

Die Versuche, die nachfolgend mit HPLC analysiert wurden, ergaben bei 70°C über 3h eine langsame Zersetzung von Ribose **25**, ohne dass  $\beta$ -Xanthosin **83** oder in einer erwarteten Nebenreaktion Xanthin **22** gebildet wurde. Bei 160°C erfolgte zwar die literaturbekannte [19] Xanthinbildung, aber Ribose **25** zersetzte sich und kein  $\beta$ -Xanthosin **83** wurde festgestellt. Nukleosidierungsversuche dieser Art über die Basenvorstufen sind aber gewiss eine interessante Alternative, die es lohnen, weiterverfolgt zu werden. Diese Vorstufen haben eine andere Selektivität als die Basen selbst und könnten mit ihren immanenten Reaktivitätseigenschaften den Bildungsweg ganz anders und vielleicht selektiver steuern.

Um die Wahl der Natur für ihr faszinierendes, informationstragendes System - der natürlichen DNA und RNA - ein wenig zu verstehen hat der synthetische Chemiker die Möglichkeit verwandte Alternativen zu synthetisieren und ihre Eigenschaften zu studieren und mit der natürlichen zu vergleichen. In unserer Gruppe wurden umfangreiche experimentelle Studien ([85] und darin enthaltene Referenzen) dazu angefertigt, wobei vor allem der Zuckerbaustein Ribose **25** durch eine Reihe verschiedener Hexosen substi-

tuiert wurde und innerhalb dieser Reihe auch Diaminopurin **19**, Isoguanin **21** und Xanthin **22** als Basen eingesetzt wurden. Diese Studien betreffen vor allem die Geometrie des Einzel- und eventuellen Doppelstrangs.

Eine andere Frage bearbeitete Alanine [86] in unserer Gruppe. Die zwei Wasserstoffbrücken der A-T- (respektive A-U-) Paarung und die drei der G-C-Paarung stehen mit der Watson-Crick'schen [87] Postulierung der Nukleinsäurestruktur im Zentrum des Geschehens um die Strukturkonstitution und die Dublikation - das heisst Informationsweitergabe - von Nukleinsäuren. Alanine versuchte selbstkomplementäre Basensysteme mit erweiterten Wasserstoffbindungsmustern zu synthetisieren, im Laborjargon treffend als Superbasen bezeichnet.

Die erste Generation davon hatte einen Pteridinkern, der einfach aus Tetraaminopyrimidin **15** und Methylpyruvat **108** zugänglich war (vgl. Abb. 82).

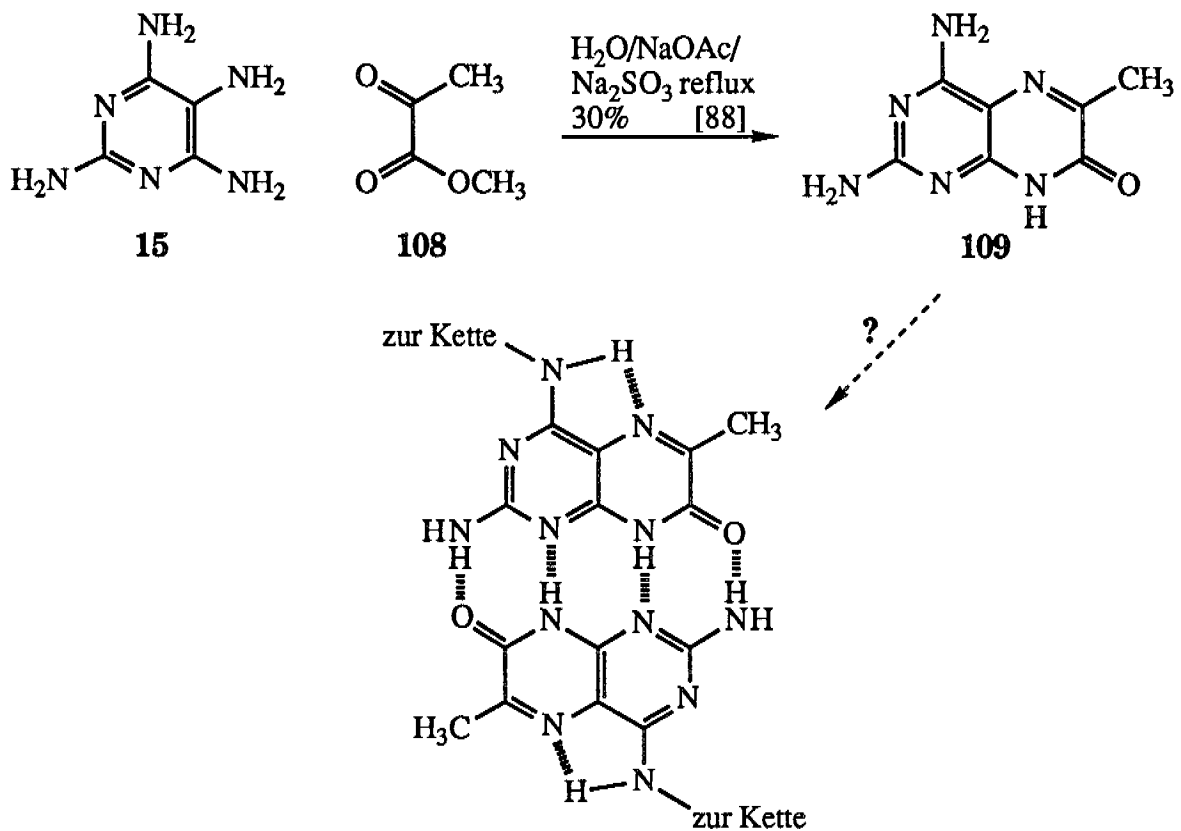
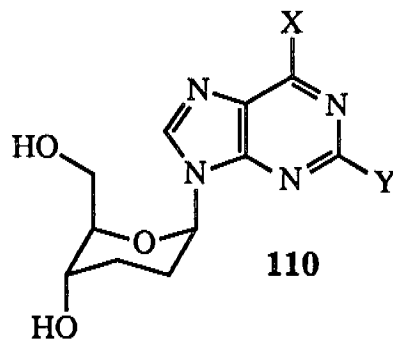


Abbildung 82: 2,4-Diamino-6-methyl-7-pteridinon **109**: Eine "Pteridin-Superbase" aus den Untersuchungen von Alanine [86]

Während ihm die Synthese von 2,4-Diamino-6-methyl-7-pteridinon **109** nach einer literaturbekannten [88] Vorschrift problemlos gelang, vereitelte ihm

die eigentlich erwartete Schwerlöslichkeit - bei so vielen Möglichkeiten von Wasserstoffbrücken-Interaktionen - die Nukleosidierung davon.

So wurde eine zweite Generation von "Purin-Superbasen" in Angriff genommen. Diesmal wurde bereits von Nukleosiden, genauer von geschützten 2',3'-Dideoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylpurinen **110** ausgegangen, die bereits aus anderen Untersuchungen [89] in unserem Laboratorium zur Verfügung standen (vgl. Abb. 83). Es galt nun, in diesem entsprechend derivatisierte Purin-Nukleosid **110** mit passenden Reagentien die Ureido- oder Guanidino-gruppe einzuführen. Dies gelang Alanine [86], allerdings nur mit solchen Gruppen, die bereits selber teilweise substituiert waren. Der Aufbau einer Polynukleotidkette mit den unsubstituierten Basen **111** - **114**, wie sie in Abb. 83 gezeigt sind und ihr Paarungsverhalten bleibt aber eine faszinierende Frage, die noch zu untersuchen sein wird.



X, Y = OH, NH<sub>2</sub>, Cl, N<sub>3</sub> → X = OH, NH<sub>2</sub>; Y = NH-CO-NH<sub>2</sub>, NH-CN-NH<sub>2</sub>

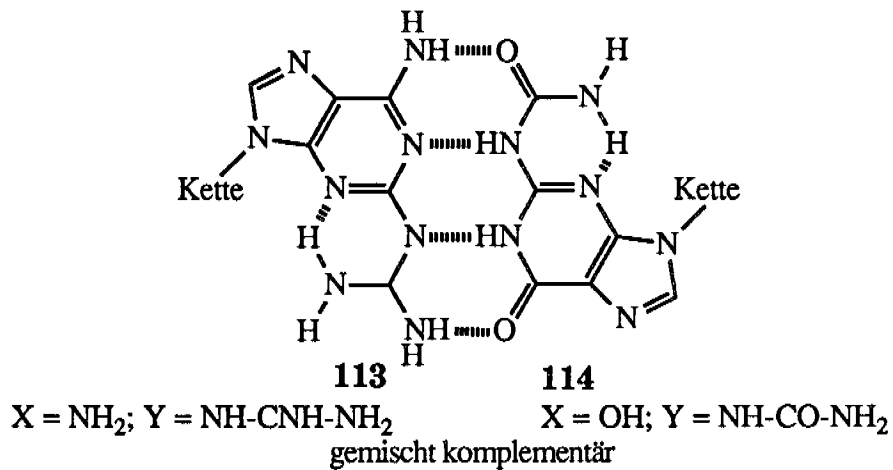
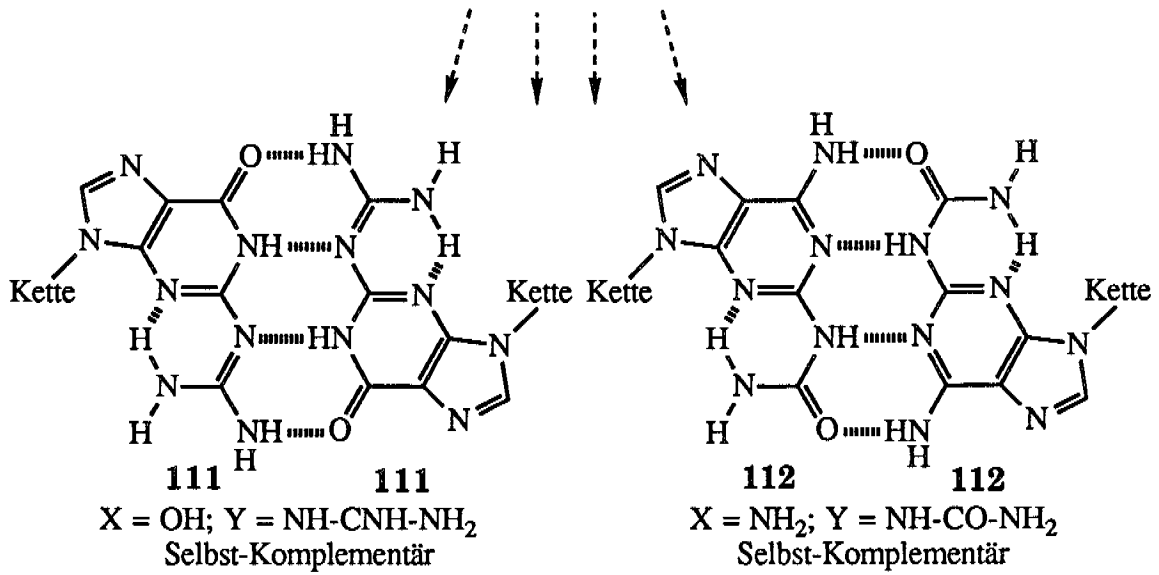


Abbildung 83 : "Super-Purin-Basen" und ihre Paarungseigenschaften als Ziel der Untersuchungen von Alanine [86]

Seite Leer /  
Blank leaf



## **EXPERIMENTELLER TEIL**

### **ALLGEMEINE BEMERKUNGEN**

Für die Bestimmung von analytischen Daten möchte ich an dieser Stelle danken:

Den Frauen B. Brandenburg und V. Eggli, sowie Herrn Dr. B. Jaun für die Messung von  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren.

Den Herren R. Häfliger und Dr. W. Amrein für die Messung von Massenspektren.

Den Herren R. Dohner und D. Manser für die IR-Spektren, sowie letzterem für die Elementaranalysen.

Weiter möchte ich den Frauen Hürlimann, Jucker, Szabolcsi und Skiebe am Materialschalter für die erfreuliche Zusammenarbeit danken.

### **Ausbeuten**

Wenn nicht speziell vermerkt ohne Lösungsmittelkorrektur.

### **Dünnschichtchromatographie**

auf Glasplatten belegt mit 0,25 mm Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, fluoreszierend bei 254nm, von Merck oder Marchery & Nagel.

UV-absorbierende Substanzen wurden durch Extinktion der Fluoreszenz bei 254nm beobachtet.

Als Tauchlösungen eingesetzt wurden:

Anisaldehyd: 10ml Anisaldehyd in 180ml Ethanol, 2ml Essigsäure sowie 10ml konzentrierte Schwefelsäure und dann Entwicklung in der Hitze.

Ninhydrin: 2%-ige Lösung von Ninhydrin in n-Butanol-Essigsäure 19:1 und dann Entwicklung in der Hitze.

### **Handschuhkasten-Technik (Glovebox)**

Glove-box Modell DLX 001-S-P / Dry-Train HE-493; Vakuum Atmospheres Corporation, Hawthorne, California USA mit Sauerstoffanalysator der

Firma Teledyne Analytical Instruments. Sauerstoffgehalt 2-10ppm. Lösungsmittel wurden entweder durch Anlegen von HV bis zur Druckkonstanz oder - bei kleineren Mengen - durch Ausfrieren entgast. Die Methoden sind in extenso beschrieben in [90].

### **IR-Spektren**

Perkin-Elmer Gitterspektrograph PE 983, Bandenlagen  $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ , die relativen Intensitäten sind charakterisiert durch die Symbole: vs = sehr stark, s = stark, m = mittel, w = schwach, sh = Schulter, br = breit.

### **Hochdruckflüssigchromatographie HPLC**

Die HPL-Chromatographie wurde mit einer LKB-Bromma 2249-Gradientenpumpe, einem Kratos Spectroflow 757-Detektor, einem Tarkan W+W Recorder 600-Schreiber und einem Hewlett-Packard HP 3390A-Integrator durchgeführt.

Die verwendeten Trennsysteme sind bei den entsprechenden Experimenten vermerkt.

Sämtliche Laufmittel wurden vor Gebrauch mindestens 5min am Hausvakuum entgast und mit Ar gespült. Vor dem Einspritzen wurden die Lösungen durch Linsoft und danach durch einen Mikrofilter 0.45 $\mu\text{m}$  (Nalgene<sup>®</sup> Spritzenfilter mit Teflonmembran, Skan AG) filtriert und für die analytische Chromatographie in maximal 110 $\mu\text{l}$  und für die präparative Chromatographie in maximal 1.1ml Lösung injiziert.

### **Lyophilisator**

Wässrige Lösungen wurden mit flüssigem Stickstoff gefroren und am Lyophilisator Alpha I-5 (Christ) bei 0.1 - 0.2mbar gefrieretrocknet.

### **NMR-Spektren**

<sup>1</sup>H-NMR: Bruker WM 400 (400MHz), Bruker WM 300 (300MHz), Varian XL 300 (300MHz) oder Varian Gemini 200 (200MHz), chemische Verschiebung  $\delta$  in ppm bezüglich TMS als internen Standard, Kopplungskonstanten J in Hz, Multiplizitäten: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, br = breit, für <sup>1</sup>H-NMR-Messungen in D<sub>2</sub>O wurden die Proben ein- bis zweimal in D<sub>2</sub>O gelöst und lyophilisiert.

*<sup>13</sup>C-NMR*: Bruker WM 400 (100MHz), Varian XL 300 (75MHz) oder Varian Gemini 200 (50MHz), chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm bezüglich TMS als internen Standard. Multiplizitäten aus DEPT-Spektren ermittelt.

### **Massenspektren**

*EI-Spektren*: Hitachi RMU-6D (Ionisationsenergie 70eV) und Tribid (70eV), Angaben in m/z, in Klammern Intensitäten in % des Basispeaks.

*FAB-Spektren*: VG ZAB2 SEQ (pos. und neg.), Signale des Matrixlösungsmittels, dessen Oligomeren und Na<sup>+</sup>-Addukte sind nicht erwähnt (NOBA = m-Nitrobenzylalkohol (153), Glycerin (92)).

### **pH-Messungen**

Orion SA 520, mit Eichpuffer geeicht.

### **Säulenchromatographie**

Unter Verwendung von Kieselgel 60, Korngrösse 40 - 63 $\mu$ m (Fluka) nach dem Flash-Verfahren [54]. Höhe (h) und Durchmesser ( $\phi$ ) der Säule sind in Klammern in cm angegeben.

### **Schmelzpunkte**

Sofern nicht anders angegeben in einer offenen Kapillare in einer Apparatur nach Dr. Tottoli bestimmt. Die Werte sind nicht korrigiert.

### **Ultrafiltriertes Wasser**

Entionisiertes Wasser wurde mit einer Barnstead Nanopure-Apparatur ultrafiltriert.

### **Ultraviolett/Visible-Spektren**

Kontron Uvikon 860, angegeben sind das Lösungsmittel, relative Absorptionsmaxima in nm und in Klammern der dazugehörige, berechnete Logarithmus des Absorptionskoeffizienten in M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>.

### **Filtrieren über Glasfritten**

Porosität von D1 bis D4; grob bis sehr fein

**Abkürzungen**

abs.	absolut (wasserfrei)
ber.	berechnet
d	Tag(e)
DC	Dünnschichtchromatographie
dest.	destilliert
eq.	Moläquivalent
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde(n)
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
HV	Hochvakuum
konz.	konzentriert
M	Molar (1mol/Liter)
Me	Methyl-(gruppe)
min	Minute(n)
N	Normal (1 Äquivalent/Liter)
rac.	racemisch
RT	Raumtemperatur (um 23°C)
RV	Rotationsverdampfer
sec	Sekunde(n)
Smp.	Schmelzpunkt
subl.	sublimiert
umkrist.	umkristallisiert
Zers.	Zersetzung
Bn	Benzyl
NOBA	m-Nitrobenzylalkohol
TMS	Tetramethylsilan
UV	Ultraviolett(-absorption)

## Lösungsmittel und Reagentien mit verwendeten Abkürzungen

Acetaldehyd	Fluka puriss. p.a.
Acetanhydrid	Fluka puriss. p.a.
Acetonitril MeCN	Fluka puriss. p.a.
Acetonitril für HPLC	Riedel-de-Haen
Aktivkohle	Fluka puriss. p.a.
Ameisensäure	Fluka puriss. p.a.
4-Aminobenzonitril	Fluka purum
4-Aminoimidazol-5-carbonsäureamid • HCl	Fluka purum
Aminomalonsäuredinitril-tosylat	Fluka pract.
Ammoniak-Gas	Multigas, Biel, anhydre, 99,9%
Ammoniak in wässr. Lösung 25%	Fluka puriss. p.a.
Anisaldehyd	Fluka purum
n-Butanol n-BuOH	Fluka purum
Celite	Schneider Winterthur
Chloressigsäure	Fluka puriss. p.a.
Chloroform	Fluka puriss. p.a.
Chloroform-d	Fluka puriss. >99.8%D
Cyanoessigsäureethylester	Fluka purum
4,6-Diamino-2-mercaptopyrimidin	Aldrich 99%
2,6-Diaminopurinhemisulfat mit ca. 1.5 eq. H <sub>2</sub> O	Sigma
Diaminouracilhemisulfat	Fluka pract.
Diethylether DEE	Fluka puriss. p.a.
Dimethylsulfoxid DMSO	Fluka puriss. p.a.
Dimethylsulfoxid-d <sub>6</sub> d <sub>6</sub> -DMSO	Fluka puriss. >99.5%D
Essigsäure	Fluka puriss. p.a.
Ethanol EtOH	techn. dest. über NaOEt
Ethylacetat EtOAc	techn. dest. über K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Formalin 36.5%	Fluka puriss. p.a.
DL-Glycerinaldehyd	Fluka purum crist.
Guanidincarbonat	Fluka purum
Guanin	Fluka puriss.
Harnstoff	Fluka puriss. p.a.
Hexan	techn. dest. über NaH
Isoguaninhemisulfat-hydrat	Sigma ca. 80%

Kaliumcarbonat	Fluka purum
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck, pro analysi
di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck, pro analysi
Kieselgel 60 für Säulenchromatographie	Fluka
Magnesiumsulfat	Fluka purum
Methanol MeOH	Fluka puriss. p.a.
Methanol für HPLC MeOH	Riedel de Haën
Methylacetat MeOAc	Fluka puriss. p.a.
Natriumcarbonat	Merck p.a.
Natriumethylat NaOEt	Fluka pract.
Natriummethylat NaOMe	Fluka pract.
Natriumsulfat	Merck p.a.
Natriumborhydrid	Fluka purum p.a.
Natriumdithionit	Fluka Microselect
Natriumhydroxid für Lösungen	Siegfried Ph. Helv.
Natriumhydrogenphosphatdihydrat	Fluka purum p.a. cryst.
Natriumnitrit	Fluka puriss. p.a.
Ninhydrin Nin	Fluka purum p.a. cryst.
Pentan	techn. dest. über NaH
Perfluorbuttersäure PFBA	Fluka puriss.
D-Ribose	Fluka >99%
Salzsäure	Fluka puriss. p.a.
Schwefelsäure konz.	Fluka puriss. p.a.
D,L-Serin	Fluka puriss.
Stickstoff, flüssig N <sub>2</sub> (l)	Carbagas
Tetramethylharnstoff	Fluka purum
Tetraaminopyrimidinsulfat	Fluka pract.
p-Toluolsulfonsäurehydrat p-TosOH	Fluka puriss.
2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat	Fluka pract.
1,5,7-Triazabicyclo(4.4.0)dec-5-en TBD	Fluka purum
Wasser-d <sub>2</sub>	Dr.Glaser AG, Basel, >99.95% D
Xanthin	Fluka puriss.
Xanthosin	Sigma krist.

### **Nicht kommerziell erhältliche Reagentien und Edukte**

Aminomalonsäurenitrilamid **52** wurde ausgehend von Malonsäurenitril-ethylester durch Nitrosierung mit Natriumnitrit in verdünnter Essigsäure [55], Reduktion des Oxims mit Natriumdithionit [56] und schliesslich direkter Ammonolyse in wässrigem, konzentriertem Ammoniak hergestellt. Es wurde aus Methanol kristallisiert. Gegen Ende der Arbeit war es von der Firma Merck kommerziell erhältlich.

Guanidin wurde aus dem Carbonat in flüssigem Ammoniak mit Kaliumamid freigesetzt, das Kaliumcarbonat konnte abfiltriert werden [91]. Es wurde trocken im Handschuhkasten aufbewahrt.

4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat **17S** wurde ausgehend vom 4,6-Diamino-2-mercaptopyrimidin durch Reaktion mit Chloressigsäure, hydrolytische Abspaltung von Mercaptoessigsäure, Nitrosierung mit Natriumnitrit und schliesslich Reduktion mit Natriumdithionit hergestellt. Es wurde aus  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N kristallisiert [22].

4-Aminoimidazol-5-carbonsäureamid **24** wurde aus dem Hydrochlorid **24C** durch Chromatographieren über Ionentauscher Dowex 1x8 ( $\text{OH}^-$ -Form) gewonnen und aus Ethanol/Toluol kristallisiert [63].

4-Aminoimidazol-5-carbonsäurenitril **23** wurde aus dem Hydrochlorid **23C** durch Chromatographieren über Ionentauscher Dowex 1x8 ( $\text{OH}^-$ -Form) gewonnen und aus Ethanol/Toluol kristallisiert [63]. Das Hydrochlorid **23C** wurde durch Dehydratisieren [92] von 4-Aminoimidazol-5-carbonsäureamid-hydrochlorid **24C** in Phosphoroxchlorid  $\text{POCl}_3$  gewonnen.

Seite Leer /  
Blank leaf



# 1. BLAUSAEURETRIMER: AMINOMALONSAEUREDINITRIL

## 1.1. Aminomalonsäuredinitril



In einem vorgetrockneten 1l-Dreihalskolben mit Magnetrührer, Gaseinleitungsrohr und -auslass mit Blasenähler wurden 15g Aminomalonsäuredinitril-tosylat **2T**<sup>1</sup> (60mmol) in einem Gemisch aus 400ml Diethylether und 200ml Methylenchlorid suspendiert. Die Suspension wurde unter Stickstoffstrom in einem Kochsalz/Eis-Bad auf -10°C Innentemperatur gekühlt. Nun wurde vorsichtig bei starkem Rühren Ammoniak direkt in die Lösung geblasen, bis ein feuchtes pH-Papier am Blasenähler deutlich basisch anzeigte. Während 1h wurde die Lösung mit einem Stickstoffstrom belüftet<sup>2</sup>. Man entfernte das Kühlbad und filtrierte die Suspension scharf über eine D3-Glasfritte. Das zurückgehaltene Ammoniumtosylat wurde mit Diethylether gewaschen und das Filtrat am Rotationsverdampfer bei 0°C zur Trockne eingeengt. Der gelbliche Festkörper wurde in wenig vorgekühltem Methylacetat aufgenommen und in einen tarierten 50ml-Kolben über Papier filtriert. Wieder wurde im Eisbad zur Trockne eingeengt und 1h am Hochvakuum bei 0°C im Eisbad nachgetrocknet. Man erhielt bei dieser Temperatur 3.95g Aminomalonsäuredinitril **2** (49mmol, 82%) als einen leicht gelblichen Festkörper, der gemäss <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum noch 5 Gewichtsprozent

---

<sup>1</sup>Aus dem käuflichen, braunen Aminomalonsäuredinitril-Tosylat (Fluka pract.) gewonnen durch Auflösen in Methanol, Entfärben mit Aktivkohle und Kristallisieren zwischen Raum- und Tieftemperatur (-20°C, Tiefkühler) aus Methanol/Diethylether in Form von weissen Plättchen.

<sup>2</sup>Die Ammoniakkontrolle mit dem pH-Papier am Blasenähler verlief immer noch schwach positiv.

Methylacetat enthält. Bei  $-25^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt, blieb er über mindestens eine Woche unverändert<sup>1</sup>.

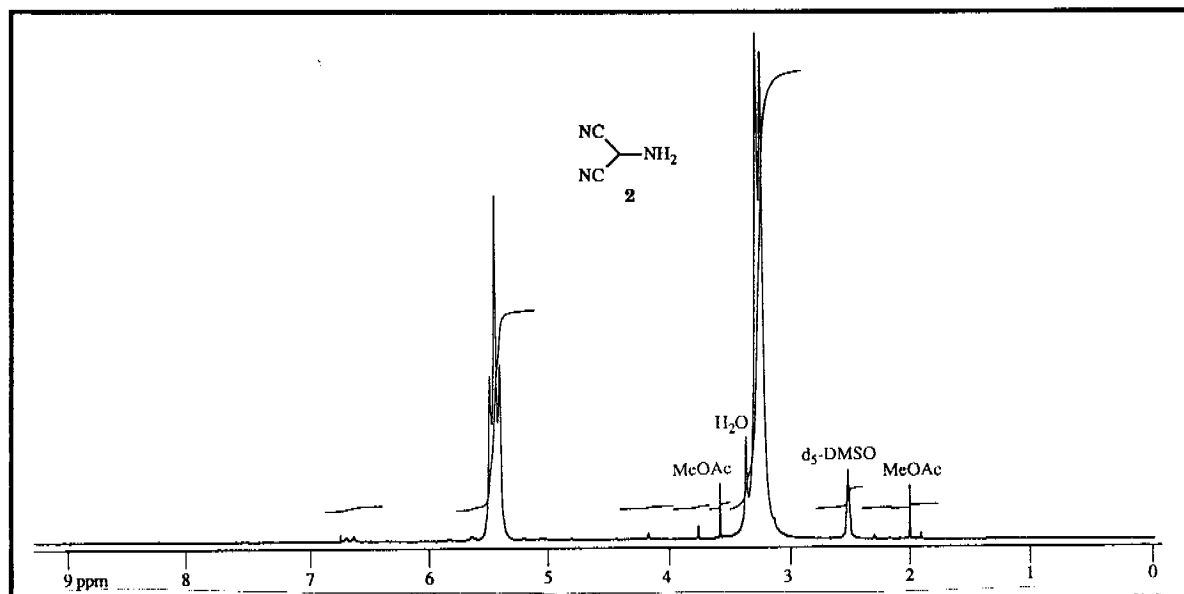
Analytische Daten von Aminomalonsäuredinitril **2**:

DC  $R_f$  0.60, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essigsäure), Detektion Ninhydrin: zitronengelb

$^1\text{H-NMR}$  200 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 2.00 (s, 0.18H, Methylacetat), 2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 3.26 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 2H,  $\text{H}_2\text{N-C}(2)$ ), 3.33 (s, ca. 0.2 H,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 3.57 (s, 0.18H, Methylacetat), 5.46 (t,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H,  $\text{H-C}(2)$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  50 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 34.0 (C(2)), 39.1 (hept,  $d_6$ -DMSO), 115.4 (C(1))

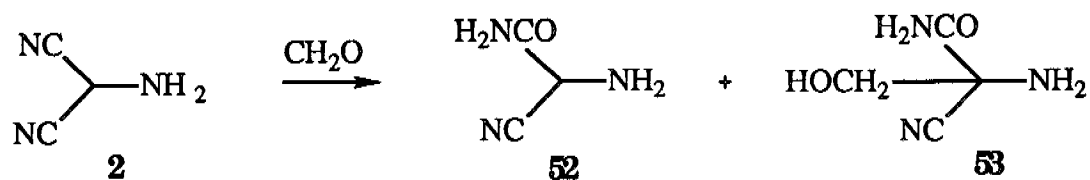
$^{13}\text{C-NMR}$  50 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$   
 36.7 (s, C(2)), 117.2 (s, C(1))



200MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Aminomalonsäuredinitril **2** in  $d_6$ -DMSO

<sup>1</sup>Bei  $4^{\circ}\text{C}$  wird er innert Tagen braun, bei Raumtemperatur schmilzt er zu einem gelben Oel, das sich innert Stunden zu einem braunen, amorphen Festkörper zersetzt.

## 1.2. rac.-Aminomalonsäurenitrilamid



In 150ml 0,2M Natrium-Phosphatpuffer mit pH 8.0 wurden bei RT (23°C) unter ständigem Rühren zuerst 495mg Formalin (36.5% Formaldehyd, 6.0 mmol) gelöst, dann 250mg Aminomalononitril **2** (98% nach <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum, 3.0mmol). Nach 10min wurden 230mg Natriumborhydrid (6.1mmol, 4 Äquivalente) zugerührt, wobei die gelbliche Lösung deutlich Gas entwickelte und nach 30min dunkler geworden war. Die Lösung wurde mit 3ml HCl 2N auf pH 8 gebracht, mit N<sub>2</sub> (l) gefroren und dann lyophilisiert (ca. 16h). Das gelbliche, feine Pulver wurde trocken mit 5g Kieselgel vermischt, in ca. 200ml Pentan aufgeschlämmt und am Rotationsverdampfer mit Staubfilter zur Trockne einrotiert. Das feingeriebene Gemisch wurde auf einer eiswassergekühlten Säule (2•50cm) über 15g Kieselgel mit folgendem Gradienten flash-chromatographiert: Ethylacetat/Ethanol 120:0, 108:12, 96:24 etc. (in ml). Die Produktfraktionen (ca. 300-750ml) wurden am Rotationsverdampfer bei 15°C eingetrocknet. Die Rückstände wurden zweimal in Acetonitril aufgenommen und wieder eingedampft. Der bräunliche, harzartige Rückstand trocknete man bei RT am HV während 24h, was 230mg Produktgemisch ergab. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum sah man neben Wasser und rac.-Aminomalonsäurenitrilamid **52** (42% Ausbeute bezüglich Aminomalonsäuredinitril **2**), rac.-Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** (20% Ausbeute). Das Produktgemisch wurde in heissem Methanol gelöst (6-7ml) und filtriert, woraus das rac.-Aminomalonsäurenitrilamid **52** bei RT in gelblichen Nadeln auskristallisierte. Nach Abfiltrieren und Trocknen (HV/16h/RT) erhielt man 85mg **52** (27% bezogen auf Aminomalonsäuredinitril **2**).

Analytische Daten von rac.-Aminomalonsäurenitrilamid **52**:

C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O 99.10

Smp. 119-120°C

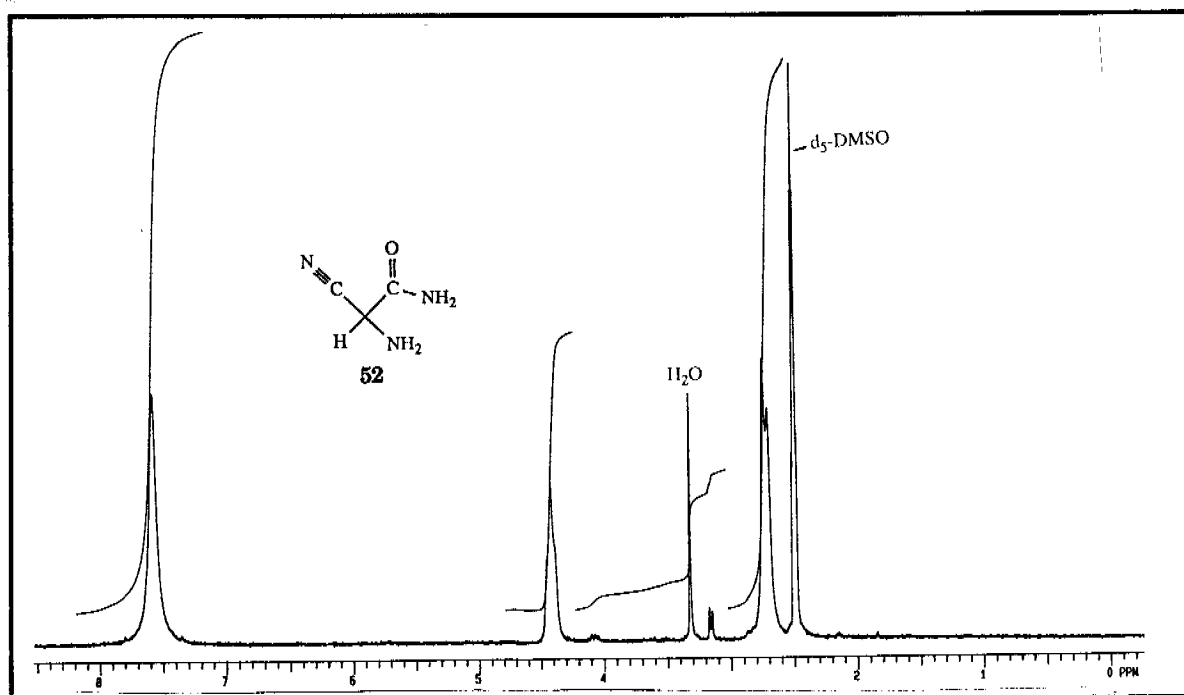
MS Pos. FAB-MS, Glycerin: 100 (M+1)

DC  $R_f$  0.20, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essigsäure), Detektion Ninhydrin: dunkelgelb

$^1\text{H-NMR}$  200 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 2.71 (d breit,  $J = \text{ca. } 8\text{Hz}$ , 2H,  $\underline{\text{H}}_2\text{-N-C(2)}$ ), 3.25 (d,  $J = 5\text{Hz}$ , 0.07H,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ), 3.33 (s,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 4.08 (m, ca. 0.02H,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ), 4.42 (t breit,  $J = \text{ca. } 8\text{Hz}$ , 1H,  $\underline{\text{H}}\text{-C(2)}$ ), 7.58 (s breit, 2H,  $\text{C(3)ONH}_2$ )

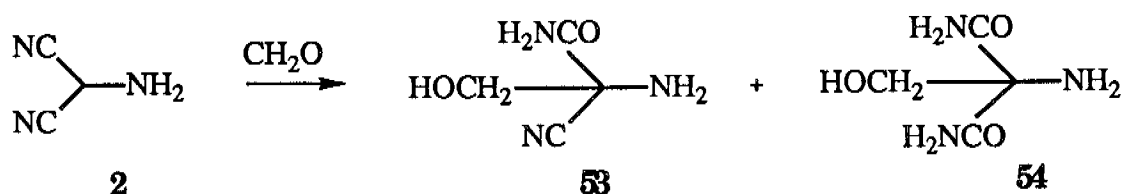
$^{13}\text{C-NMR}$  50 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 39.1 (hept,  $d_6$ -DMSO), 47.4 (d,  $\underline{\text{C(2)}}$ ), 120.3 (s,  $\underline{\text{C(1)N}}$ ), 168.4 (s,  $\underline{\text{C(3)ONH}_2}$ )

IR KBr  
 3393 s, 3368 s, 3313 s, 3216 b, 2899 s, 2244 s, 1665 b, 1607 m, 1416 b, 1370 w, 1344 w, 1279 s, 1187 w, 1171 m, 1120 m, 1109 m, 989 s, 896 b, 840 w, 811 w, 758 w, 699 m, 655 b, 605 m, 540 m, 490 m, 441 w



200MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Aminomalonsäurenitrilamid 52 in  $d_6$ -DMSO

**1.3. rac.-Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid  
Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid**



In 1.5l 0,2M Natrium-Phosphatpuffer mit pH 8.0 wurden bei RT (23°C) unter ständigem Rühren zuerst 2.71g Formalin (36.5% Formaldehyd, 33mmol) gelöst, dann 2.43g Aminomalonsäuredinitril **2** (99% nach <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum, 30mmol). Nach 90min war gemäss DC (Kieselgel; 95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essigsäure; Detektion Ninhydrin) nur noch wenig Aminomalonsäuredinitril **2** zu sehen (R<sub>f</sub> 0.6, hellgelb), dafür zwei neue Produkte (R<sub>f</sub> 0.19, dunkelgelb und R<sub>f</sub> 0.05, rot). Die gelbe Lösung wurde am Rotationsverdampfer bei RT auf ca. 600ml eingengt, das ausgefallene Natriumphosphat wurde über Papier abfiltriert und gewaschen. Die verbleibende Lösung wurde mit ca. 150g Quarzsand bis zur Zähflüssigkeit weiter eingengt. Die Masse wurde mit 400ml Ethanol 3h bei RT gerührt, über eine Glasfritte (D4) filtriert und mit Ethanol gewaschen. Die gelbe Lösung wurde auf ca. 200ml eingengt, 50g Kieselgel zugegeben und hinter Staubfilter zur Trockne eingengt. Das gelbe Pulver schlämmte man noch einmal in 200ml Pentan auf und trocknete es zu einem gelben, feinen und rieselfähigen Pulver. Dieses wurde über 100g Kieselgel in einer eiswassergekühlten (2.5•60cm) Säule mit folgendem Gradienten flash-chromatographiert: Hexan/Ethylacetat/Ethanol (in ml): 20:180:0, 10:190:0, 0:200:0, 0:190:10, 0:180:20, 0:170:30, 0:160:40 etc. Aus den Fraktionen 150-1050ml erhielt man nach Einengen und Trocknen (HV/RT/24h) 1.392g (11mmol, 36%) rac.-Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53**, das sich aus siedendem Ethanol beim Abkühlen kristallisieren liess, sich dabei aber teilweise zersetzte. Die Fraktionen 1350-1800ml gaben ebenso 320mg (2.2mmol, 7%) Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54**, das aus siedendem Acetonitril beim Abkühlen kristallisierte und nach dem Trocknen (HV/RT/ 24h) 295mg lange weisse Nadeln gab.

Analytische Daten von rac.-Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid  
**53**

$C_4H_7N_3O_2$  129.13

Smp. 144-146°C

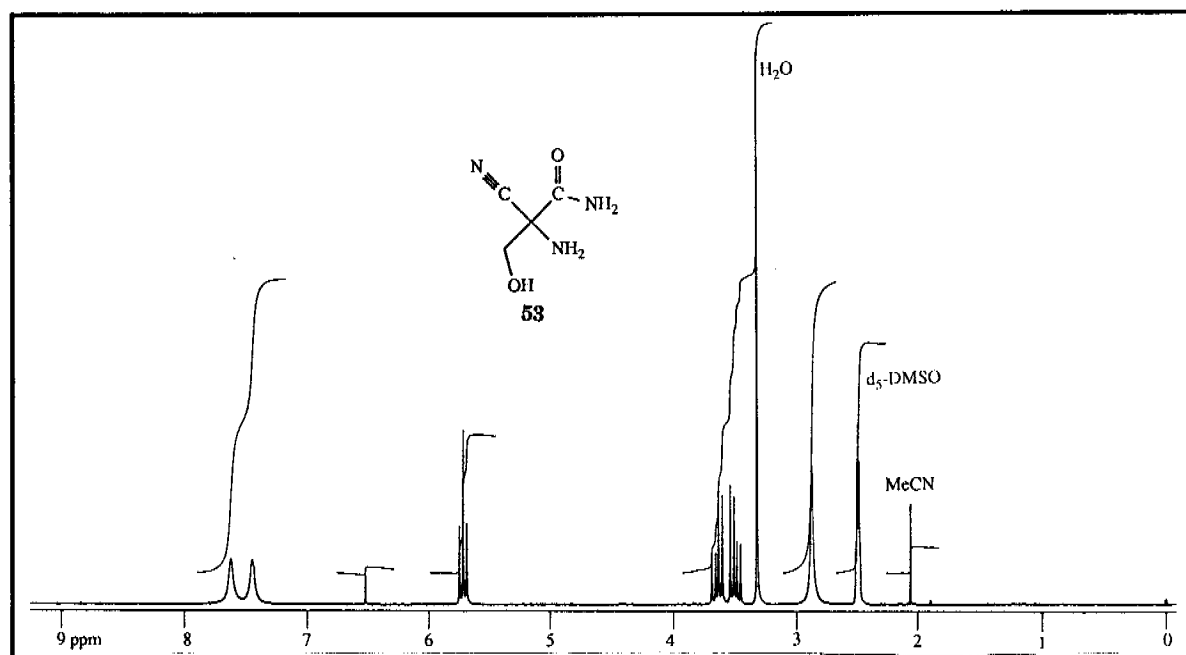
MS FAB positiv , Glycerin  
 130.0 (98, M+1)

DC  $R_f$  0.19, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essig-  
 säure), Detektion Ninhydrin: gelb-braun

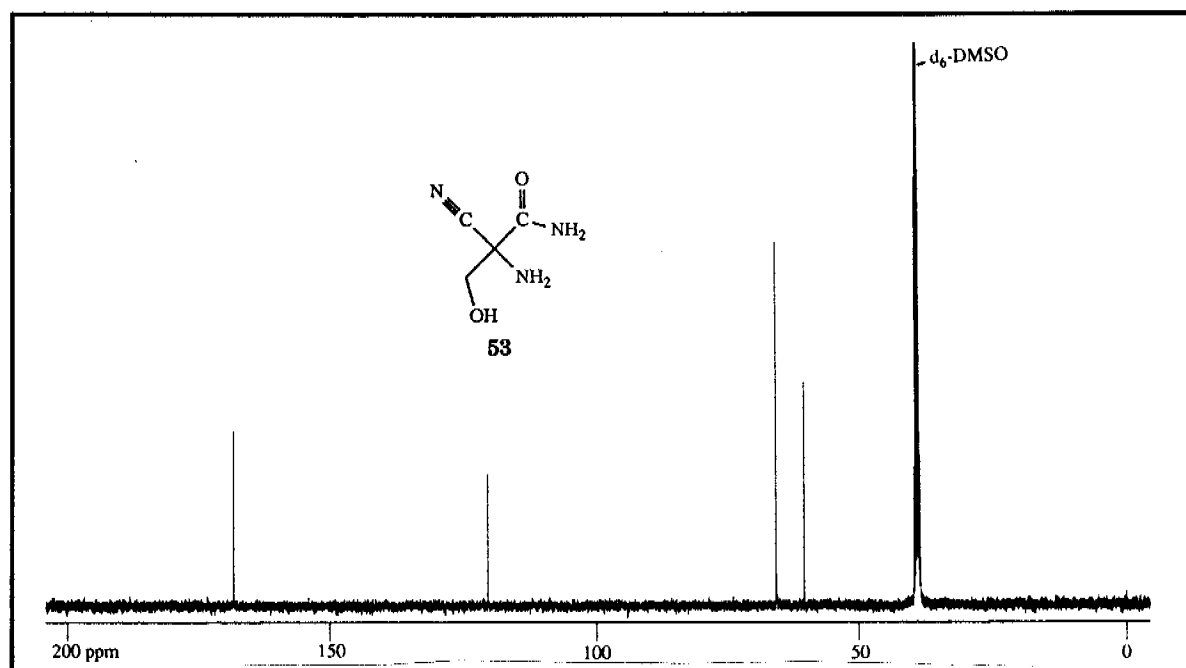
$^1H$ -NMR 200 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 2.08 (s, 0.2H,  $NC\overline{C}H_3$ ), 2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 2.89 (s br, 2H,  $NH_2$ ),  
 3.33 (s, 1.3H,  $H_2O$ ), 3.51 (dd,  $J_1=12Hz$ ,  $J_2=6Hz$ , 2H,  $HO-CH_aH_b-$   
 $C^*$ ), 3.66 s, (dd,  $J_1=12Hz$ ,  $J_2=6Hz$ , 2H,  $HO-CH_aH_b-C^*$ ), 5.73 (t,  
 $J=6Hz$ , 1H,  $CH_aH_bOH$ ), 6.52 (s, 0.06H, unbekannt), 7.44, 7.62,  
 (2s br, 2H,  $CONH_2$ )

$^{13}C$ -NMR 100 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 39.4 (hept,  $d_6$ -DMSO) 61.0 (s, C(2)), 66.4 (t,  $-CH_2OH$ ), 120.9 (s,  
 $CN$ ), 169.0 (s,  $CONH_2$ )

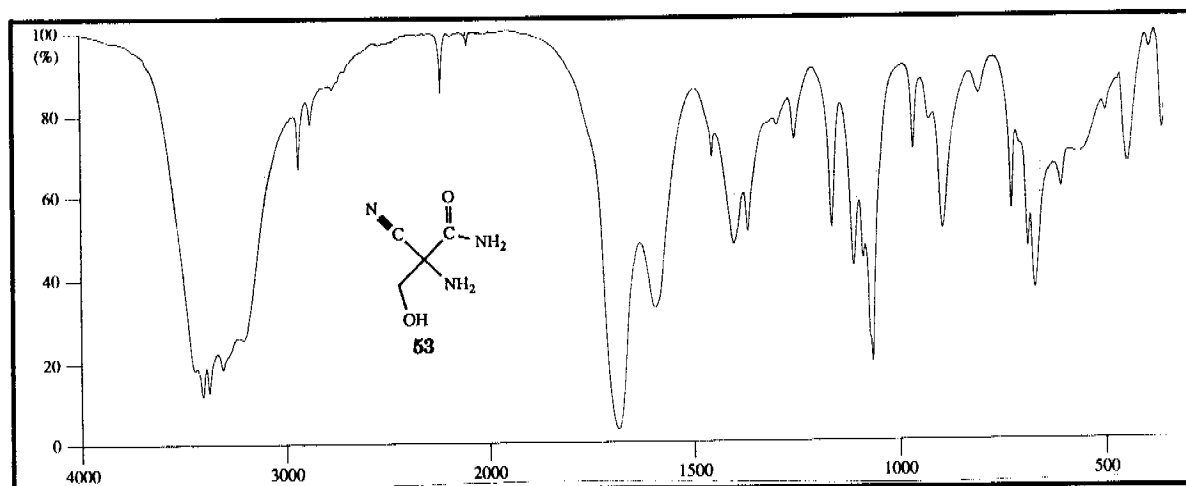
IR KBr  
 3405 s sh, 3373 s, 3305 s sh, 2941 w, 2882 w, 2240 w, 1685 vs br,  
 1596 s br, 1456 w, 1401 m, 1368 m, 1296 w, 1254 w, 1160 m,  
 1106 m, 1083 m, 1060 s sh, 962 w, 923 w br, 890 m, 801 w, 721 m,  
 681 m, 663 m, 600 w, 558 w br, 4493w, 438 m, 385 w, 354 m



200MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** in  $d_6\text{-DMSO}$



100MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53** in  $d_6\text{-DMSO}$



IR-Spektrum in KBr von Amino(hydroxymethyl)malonsäurenitrilamid **53**

Analytische Daten von Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54**

$C_4H_9N_3O_3$  147.15

Smp. 112-113°C

MS FAB positiv, Glycerin  
148.1 (100, M+1)

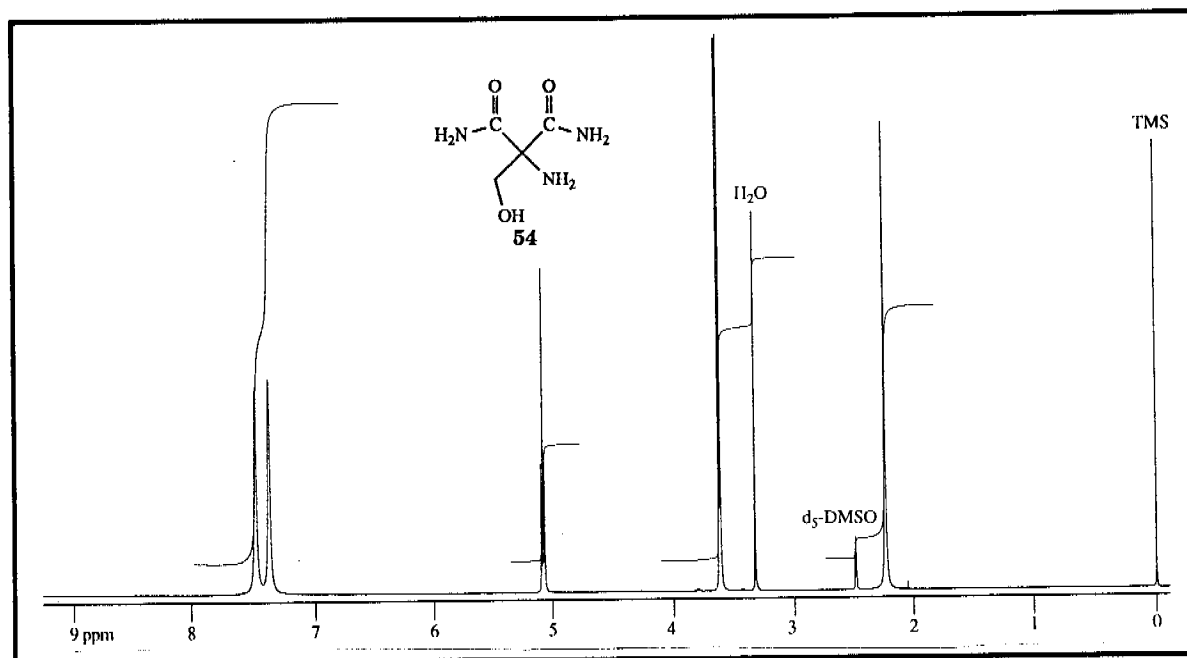
DC  $R_f$  0.05, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essigsäure), Detektion Ninhydrin: rot

$^1H$ -NMR 400 MHz,  $d_6$ -DMSO  
2.25 (s br, 2H,  $NH_2$ ), 2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 3.33 (s, 0.6H,  $H_2O$ ), 3.62 (d,  $J=5.72$ Hz, 2H,  $HO-CH_2-C$ ), 5.10 (t,  $J=5.77$ Hz, 1H,  $CH_2OH$ ), 7.37, 7.48, (2s, br, 2H,  $2CONH_a$  und  $2CONH_b$ )

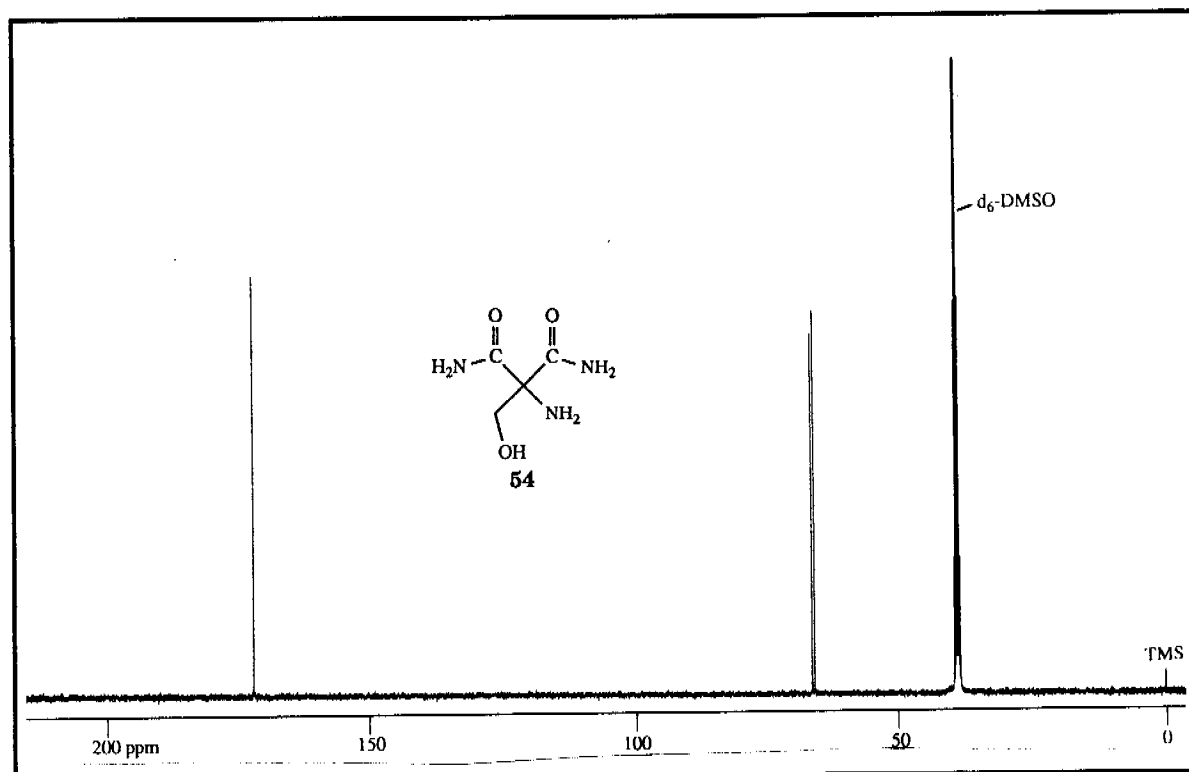
$^{13}C$ -NMR 100 MHz,  $d_6$ -DMSO  
39.4 (hept,  $d_6$ -DMSO) 66.5 (s,  $C(2)$ ), 67.0 (t,  $-CH_2OH$ ), 172.8 (s,  $2CONH_2$ )

IR KBr  
3435 s, 3381 s, 3334 s, 3303 s, 3189 s, 2974 w, 2929 w, 2880 w, 2811 w, 1696 s, 1663 vs br, 1623 s sh, 1463 w, 1418 m, 1382 m, 1355 m, 1282 w, 1248 m, 1190 w, 1117 w, 1092 w, 1071 m, 1058 s sh, 967 w, 939 m, 918 w, 815 w, 761 w, 712 m, 621 s sh, 598 s, 572 m, 517 w, 395 m sh

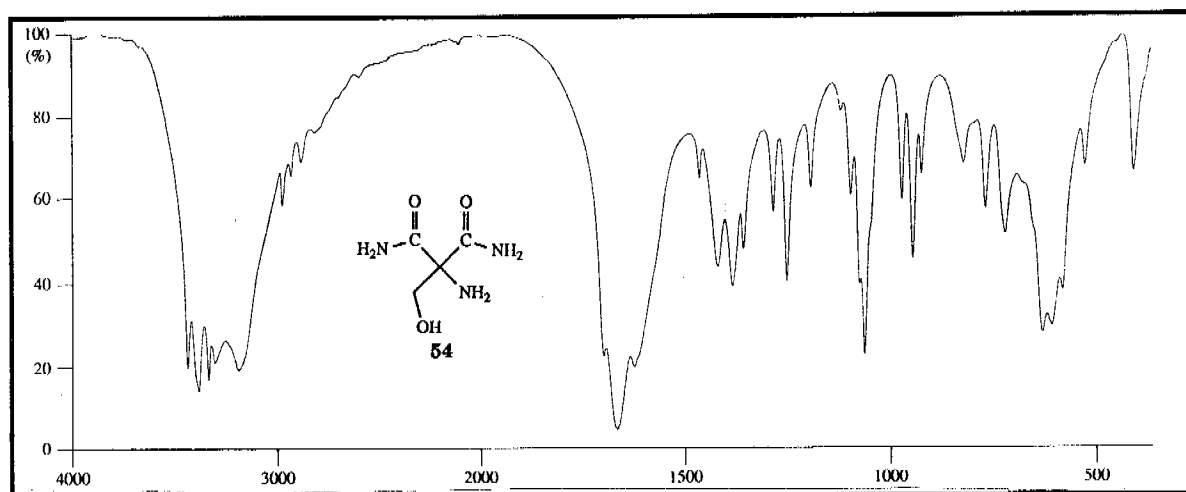




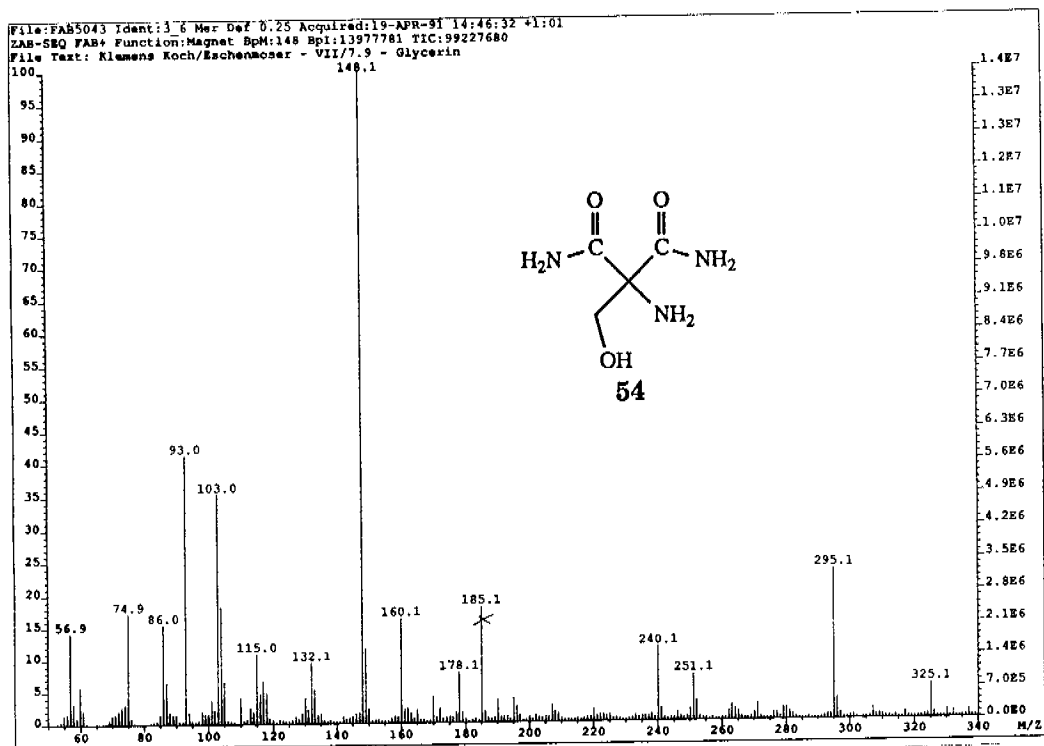
400MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54** in  $\text{d}_6\text{-DMSO}$



100MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54** in  $\text{d}_6\text{-DMSO}$

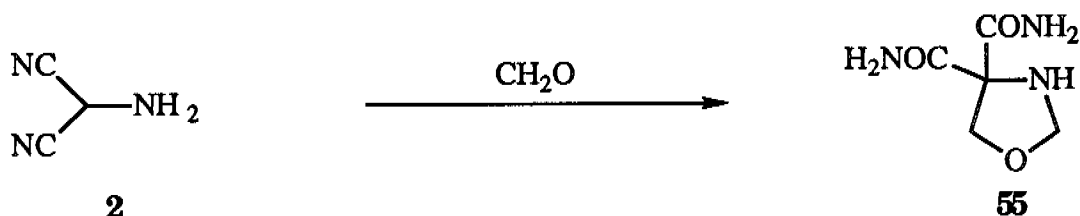


IR-Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54** in KBr



pos.-FAB-MS-Spektrum von Amino(hydroxymethyl)malonsäurediamid **54** in Glycerin

#### 1.4. 5,5-Dicarbamoyloxazolidin



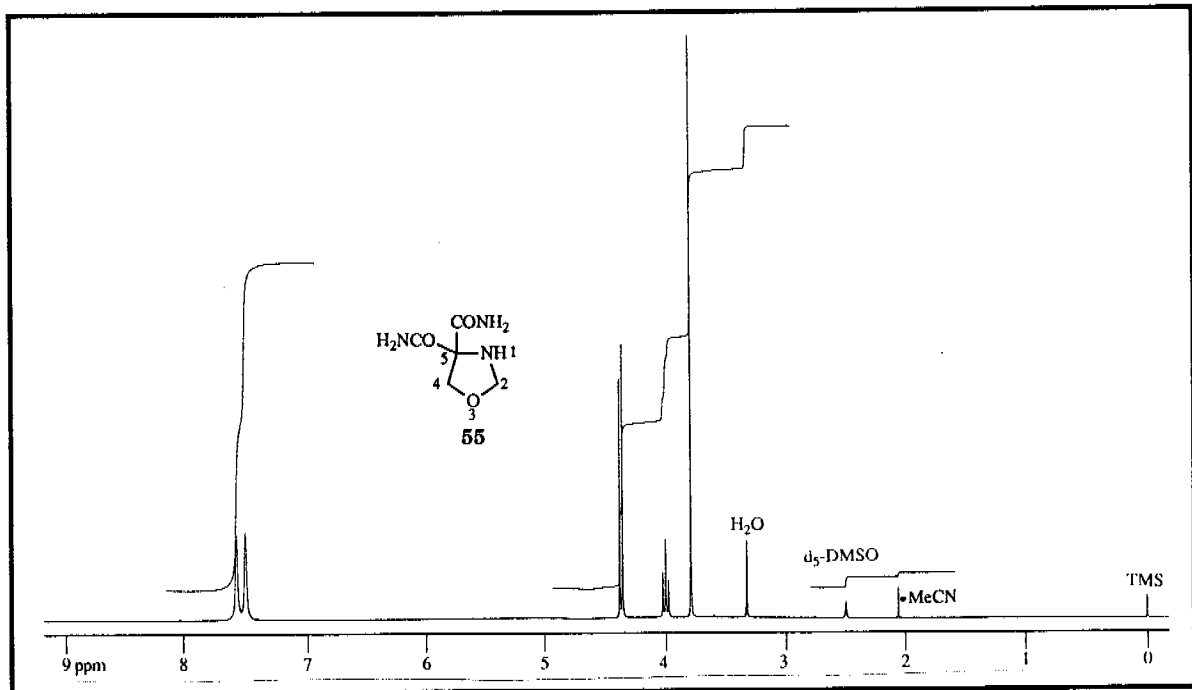
3.10g Formalin (36.5%, 1.13g Formaldehyd, 38mmol) wurden in 1l 0.05M Natriumphosphatpuffer mit pH 8.0 bei RT gelöst und unter Rühren 1.05g (11.8mmol) Aminomalonsäuredinitril **2** zugegeben. Nach 16h war mit DC (Kieselgel; 95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2.5% Essigsäure; Detektion Ninhydrin) kein Aminomalonsäuredinitril **2** ( $R_f$  0.60, zitronengelb) mehr sichtbar, aber ein neues Produkt ( $R_f$  0.29, rot). Die gelbliche Lösung wurde am Rotationsverdampfer bei 20°C auf ca. 200ml eingeeengt, über Papier filtriert und lyophilisiert. Das feine, gelbliche Pulver wurde mit ca. 200ml Pentan und 15g Kieselgel aufgeschlämmt und wieder am Rotationsverdampfer bei 25°C hinter einem Staubfilter zu einem feinkörnigen, rieselfähigen Pulver eingetrocknet. Dieses wurde über 40g Kieselgel in einer eiswassergekühlten (1.5•50cm) Säule mit folgendem Gradienten flash-chromatographiert: Hexan/Ethylacetat/Ethanol (in ml) 40:160:0, 20:180:0, 0:200:0, 0:190:10, 0:180:20, 0:170:30, 0:160:40 etc. Nach Einengen und Trocknen (HV/ RT/24h) erhielt man aus den Produktfraktionen 1000-1500ml 1.55g (81%) zähe, weisse Masse. Sie konnte in heissem Acetonitril oder Ethanol gelöst werden, woraus beim Abkühlen **55** auskristallisierte. Nach Abfiltrieren, Waschen und Trocknen erhielt man (aus Acetonitril) 1.38g (72%) 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** in Form von weissen Plättchen.

Analytische Daten von 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55**

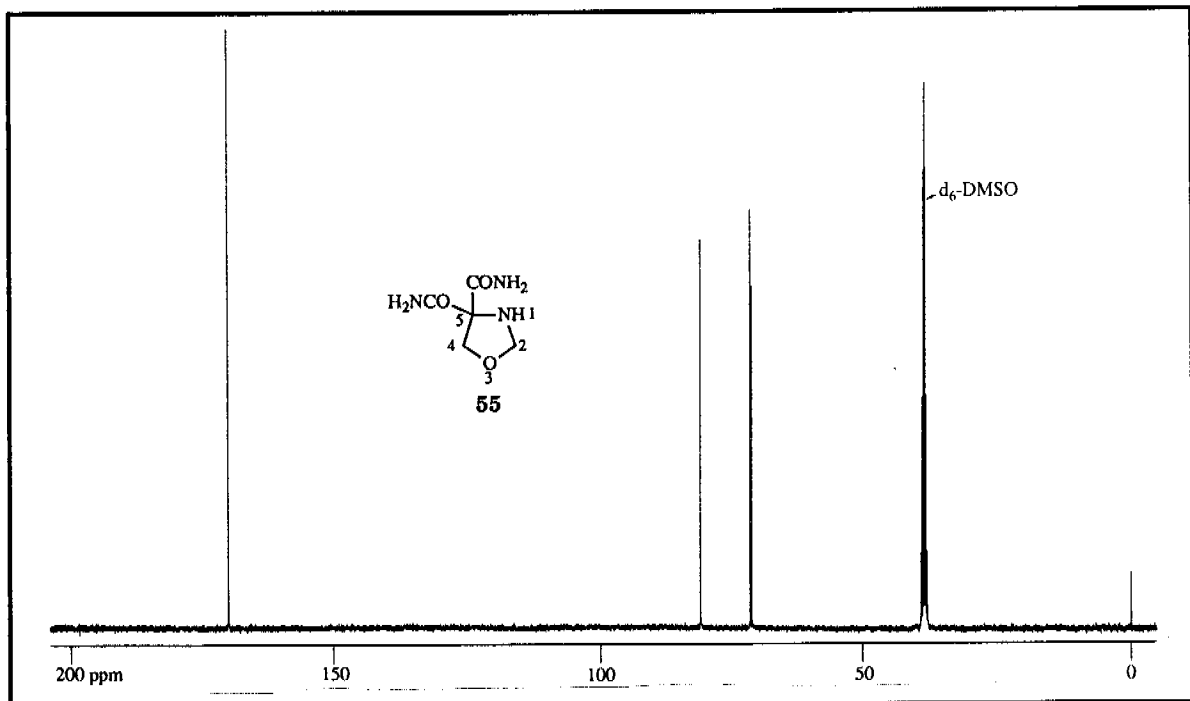
C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> 159.06

Smp. 159-160°C

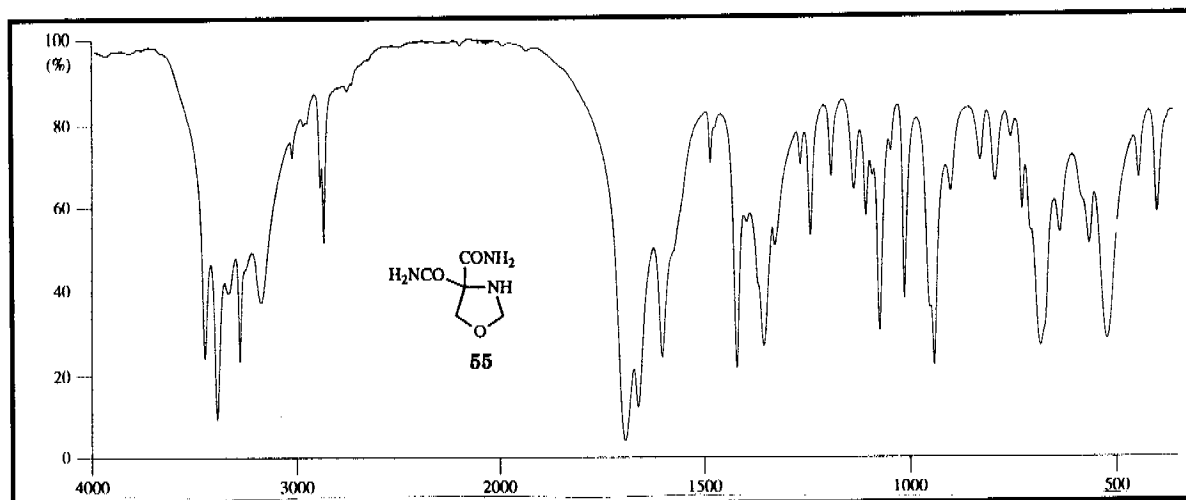
MS	EI				
		160 (0.5, M+1), 129 (1), 116 (19, M - CONH <sub>2</sub> +1), 115 (100, M - CONH <sub>2</sub> ), 98 (5), 86 (8), 72 (12), 44 (27), 42 (54), 41 (28)			
EA	ber.	C 47.23	H 7.13	N 33.05	O 12.58
	gef.	C 47.17	H 7.24	N 33.17	
DC	R <sub>f</sub> 0.29, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2.5% Essigsäure), Detektion Ninhydrin: rot				
<sup>1</sup> H-NMR	400 MHz, d <sub>6</sub> -DMSO				
	2.50 (m, d <sub>5</sub> -DMSO), 3.33 (s, H <sub>2</sub> O, 0.5H), 3.80 (s, 2H, C(4)H <sub>2</sub> ), 4.01 (t, J=9.6Hz, 1H, N(1)H), 4.29 (d, J=9.6Hz, 2H, C(2)H <sub>2</sub> ), 7.51, 7.59 (2s, 2•2H, C(5)(CONH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> )				
<sup>13</sup> C-NMR	100 MHz, d <sub>6</sub> -DMSO				
	39.4 (hept, d <sub>6</sub> -DMSO) 71.9 (C(5)), 72.3 (C(4)H <sub>2</sub> ), 81.7 (C(2)H <sub>2</sub> ), 171.5 (C(5)(CONH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> )				
IR	KBr				
	3447 s, 3385 s, 3330 m, 3275 s, 3172 b, 3022 w, 2885 m, 2868 m, 1696 vs, 1664 s, 1606 s, 1487 w, 1421 s, 1398 w, 1356 m sh, 1329 w, 1267 w, 1242 m, 1191 m, 1136 m, 1106 m, 1090 w, 1010 s, 936 s sh, 897 w, 824 w, 787 w, 750 w, 722 w, 677 b sh, 630 w, 558 w sh, 515 b, 437 w, 392 w				



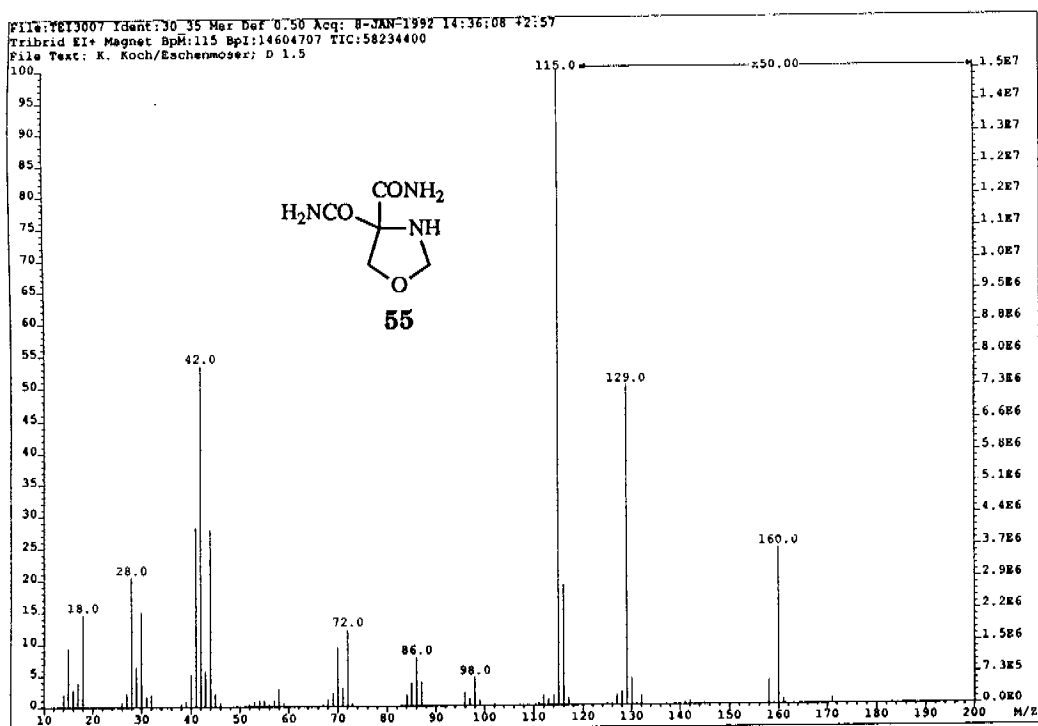
400MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** in  $d_5\text{-DMSO}$



100MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** in  $d_6\text{-DMSO}$



IR-Spektrum von 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** in KBr



EI-Massenspektrum von 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55**

## 1.5. Serin



200mg (1.36mmol) 5,5-Dicarbamoyloxazolidin **55** wurden 7 Tage bei RT in 20ml NaOH 2N gelöst stehengelassen. Die farblose Lösung wurde dann mit ca. 60ml Kationentauscher IR-120 (H<sup>+</sup>-Form) versetzt, bis sie mit dem pH-Papier sauer anzeigte. Sie wurde über zusätzliche 10ml desselben Ionentauschers chromatographiert. Alle sauer anzeigenden Fraktionen (0-300ml) wurden vereinigt, am Rotationsverdampfer auf 50ml eingeeengt, über Papier filtriert und schliesslich lyophilisiert. Das weisse Pulver wurde in heissem<sup>1</sup>, wässrigem Ethanol (20:80, Wasser/Ethanol) gelöst und beim Abkühlen kristallisierte daraus DL-Serin **56**. Nach Abfiltrieren, Waschen und Trocknen (HV/RT/24h) erhielt man 115mg DL-Serin **56** als weisse nadelförmige Kristalle, die in allen, unten angeführten analytischen Daten mit einer authentischen Probe übereinstimmten.

C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub> 105.09

Smp. 230-240°C (Zersetzung)

MS pos. FAB-MS, Glycerin  
106 (M+1)

DC R<sub>f</sub> 0.19, Kieselgel (n-Butanol/Wasser/Essigsäure 4:2:1),  
Detektion Ninhydrin: rot

---

<sup>1</sup>notwendig zum vollständigen Decarboxylieren

<sup>1</sup>H-NMR 200 MHz, D<sub>2</sub>O

3.85 (dd,  $J_1 = 9.4\text{Hz}$ ,  $J_2 = 4.5\text{Hz}$ , 1H), 3.94-3.99 (m, 2H),  
4.78 (s, HOD)

<sup>13</sup>C-NMR 50 MHz, D<sub>2</sub>O

59.0 (-OOC-C(2)H-NH<sub>2</sub>), 62.7 (-C(3)H<sub>2</sub>-OH), 174.9 (C(1)OO-)

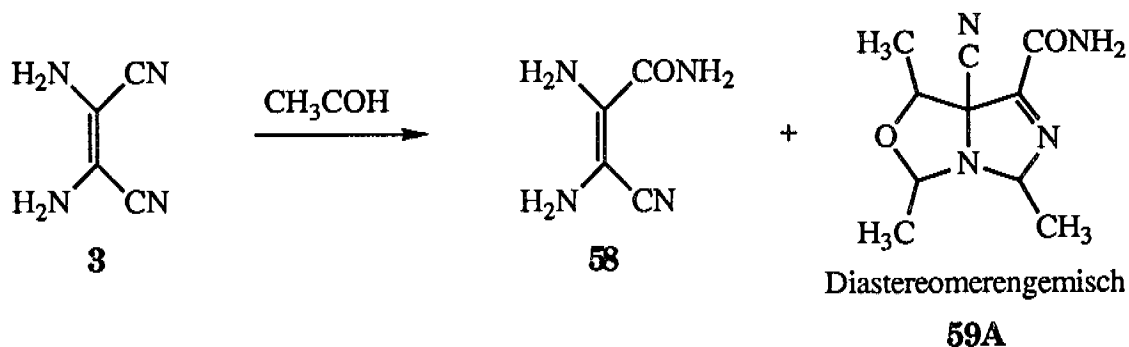
IR KBr

3403 b, 3011 b sh, 2969 w, 2940 w, 2768 w, 2648 m, 2482 w, 2349 w,  
2119 m, 1657 s, 1634 m, 1575 s, 1505 s, 1432 s sh, 1373 w, 1351 w,  
1351 s sh, 1311 s, 1247 m, 1181 m, 1163 m, 1149 m, 1094 s, 1030 s,  
982 m, 900 m, 849 w, 826 w, 814 w, 727 m, 618 m, 560 m, 525 m,  
501 m, 385 s



## 2. BLAUSAEURETETRAMER: DIAMINOMALEINSÄUREDINITRIL

### 2.1. Diaminomaleinsäurenitrilamid



10.80g Diaminomaleinsäuredinitril<sup>1</sup> **3** (0.10mol) wurden im Mörser pulverisiert und in 1.5l 0.03M Natriumphosphatpuffer bei pH 8.0 und RT suspendiert. Unter starkem Rühren wurden 22ml gekühltes (4°C) Acetaldehyd ( $d = 0.78$ , 17.6g, 0.40mol) zugegeben und bei RT weitergerührt. Nach ca. 50min erhielt man eine klare orangefarbene Lösung. Nach 80min zeigte das DC (Kieselgel; 95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essigsäure; Detektion UV) fast kein **3** ( $R_f$  0.59) mehr, dafür ein neues Hauptprodukt ( $R_f$  0.31) und zwei Nebenprodukte ( $R_f$  0.03 resp. 0.00). Am Rotationsverdampfer wurde nun bei ca. 20°C auf etwa 250ml eingengt. Das ausgefallene, braune Pulver wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Man erhielt 2.95g (13mmol) braunes, kristallin glänzendes Pulver, das nach <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum

<sup>1</sup>Aus dem käuflichen, fast schwarzen Diaminomaleinsäuredinitril (Fluka pract.) durch Lösen in 2-Propanol, Entfärben mit Aktivkohle, über Celite Filtrieren, Einengen am Rotationsverdampfer bei RT und Lösen in heissem 2-Propanol, woraus es beim Abkühlen in farblosen - nur an der Oberfläche leicht bräunlichen - langen Nadeln kristallisiert.

vor allem aus **59B**<sup>1</sup> bestand, verunreinigt mit dem Diastereoisomeren **59C**<sup>1</sup> und wahrscheinlich anderen. Das Filtrat wurde lyophilisiert und das erhaltene, braune Pulver mit 60g Kieselgel vermischt, in 200ml Pentan suspendiert und am Rotationsverdampfer bei 20°C hinter Staubfilter zu einem rieselfähigen Pulver getrocknet. Es wurde in einer (5•60cm) Säule über 220g Kieselgel geschichtet und mit folgendem Gradienten flash-chromatografiert: Hexan/Ethylacetat/Ethanol: (in ml) 100:150:0, 50:200:0, 0:250:0, 0:238:12, 0:225:25, 0:212:38, 0:200:50. Die Fraktionen wurden mit DC (Kieselgel; 95% Ethylacetat, 2.5% Hexan, 2.5% Essigsäure; Detektion UV) auf Einheitlichkeit geprüft, eingeengt und getrocknet (HV/ RT/24h). Die erstelierte Fraktion (320-640ml) ergab so 1.15g hellgelbes kristallines Pulver, das nach <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum eine gleiche Zusammensetzung wie obenerwähntes Präzipitat hatte. Die zweitelierte Fraktion (720-1640ml) ergab so 2.15g (17mmol, 17%) orange-weisses Pulver, das gemäss untenstehenden, analytischen Daten aus reinem Diaminomaleinsäurenitrilamid **58** bestand.

#### Analytische Daten von Diaminomaleinsäurenitrilamid **58**

C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O 126.13

Smp. 110-115°C (Zersetzung, im abgeschmolzenen Röhrchen)

MS pos. FAB-MS, Glycerin  
106 (M+1)

DC R<sub>f</sub> 0.31, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2.5% Hexan, 2.5% Essigsäure), Detektion: UV

<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
2.50 (m, d<sub>5</sub>-DMSO), 3.33 (s, H<sub>2</sub>O), 4.15 (s breit, 2H, C(2)NH<sub>2</sub>), 4.91 (s breit, 2H, C(3)NH<sub>2</sub>), 7.25 (s breit, 2H, C(4)ONH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
39.4 (hept, d<sub>6</sub>-DMSO), 95.3 (C(2)), 119.2 (C(1)N), 131.5 (C(3)),  
164.7 (C(4)ONH<sub>2</sub>)

---

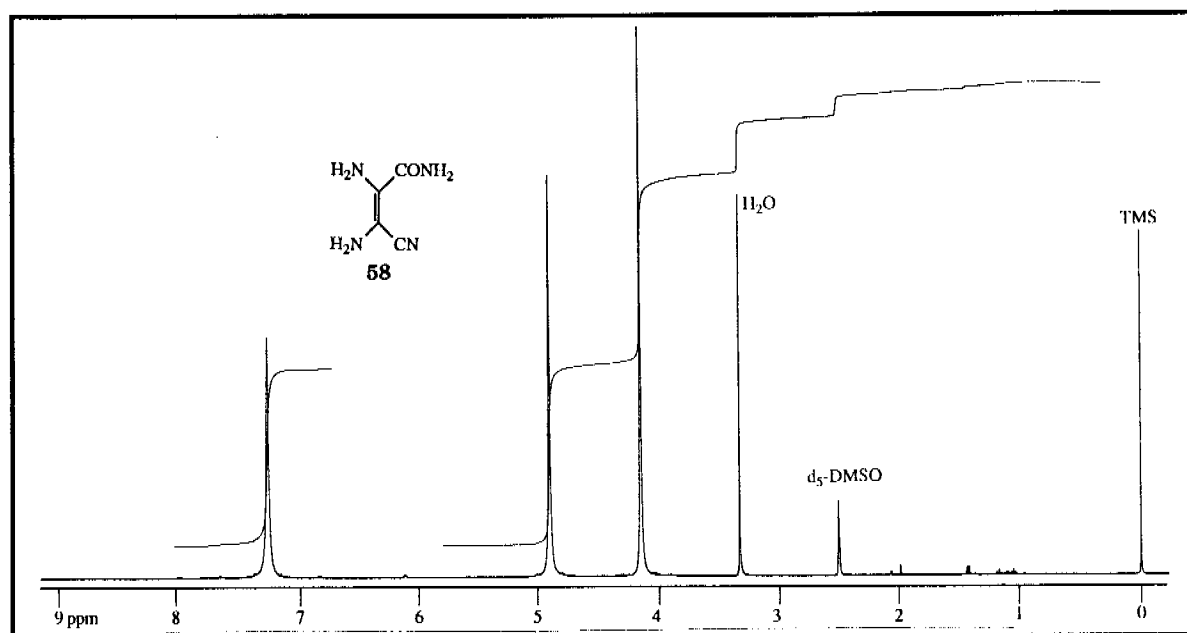
<sup>1</sup>vergleiche Referenz im nachfolgenden Experiment

IR KBr

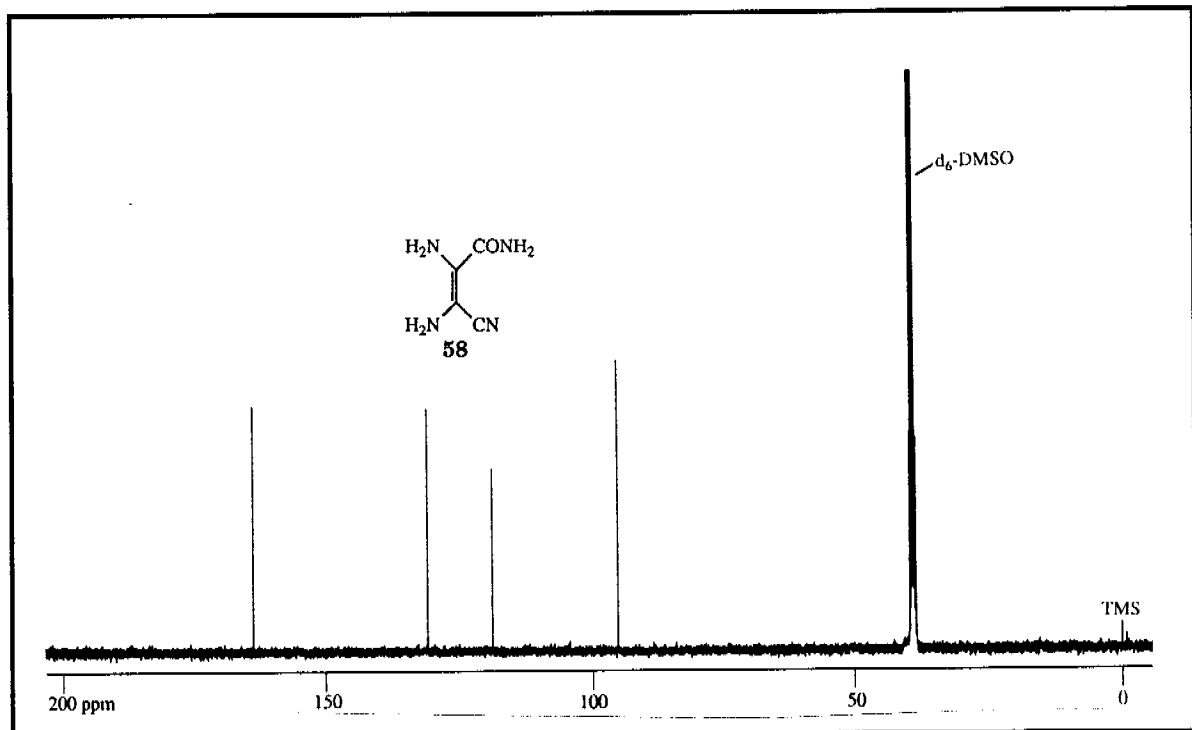
3451 s, 3355 s sh, 3293 w, 3179 s, 2204 vs, 1666 vs, 1620 s sh, 1604 s,  
1584 s, 1440 s, 1323 m, 1293 m, 1228 m, 1096 m, 789 m, 737 m sh,  
664 w, 636 m, 607 m, 522 w, 441 m

UV 10 mM Na-Phosphat, pH 7.0,  $1.97 \cdot 10^{-4} \text{M}$

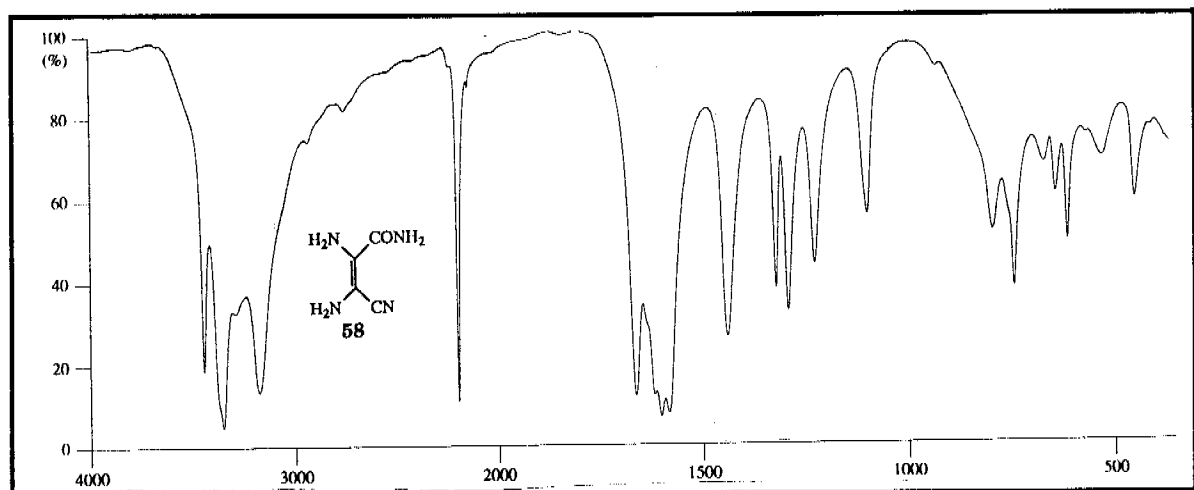
297 nm,  $\epsilon_{297} = 6290 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$



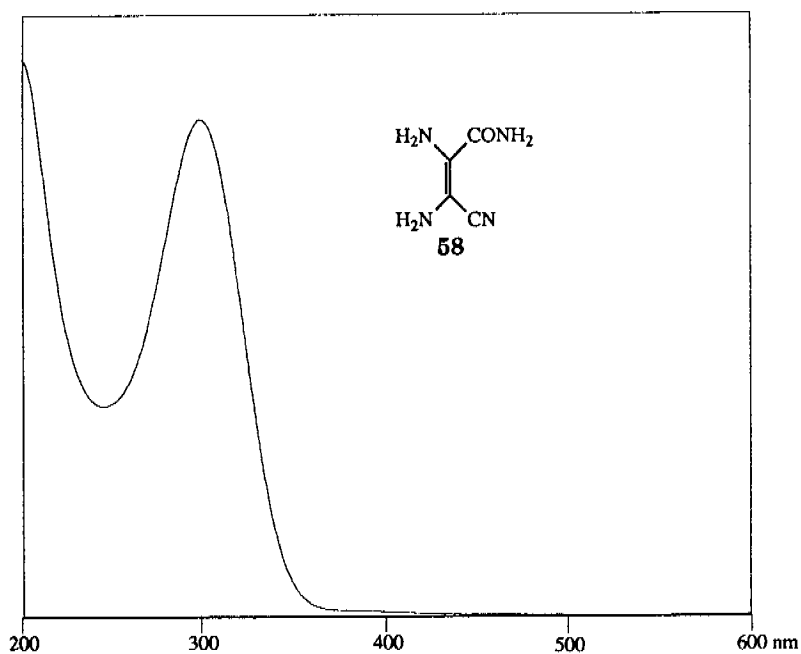
400MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Diaminomaleinsäurenitrilamid **58** in  $\text{d}_6\text{-DMSO}$



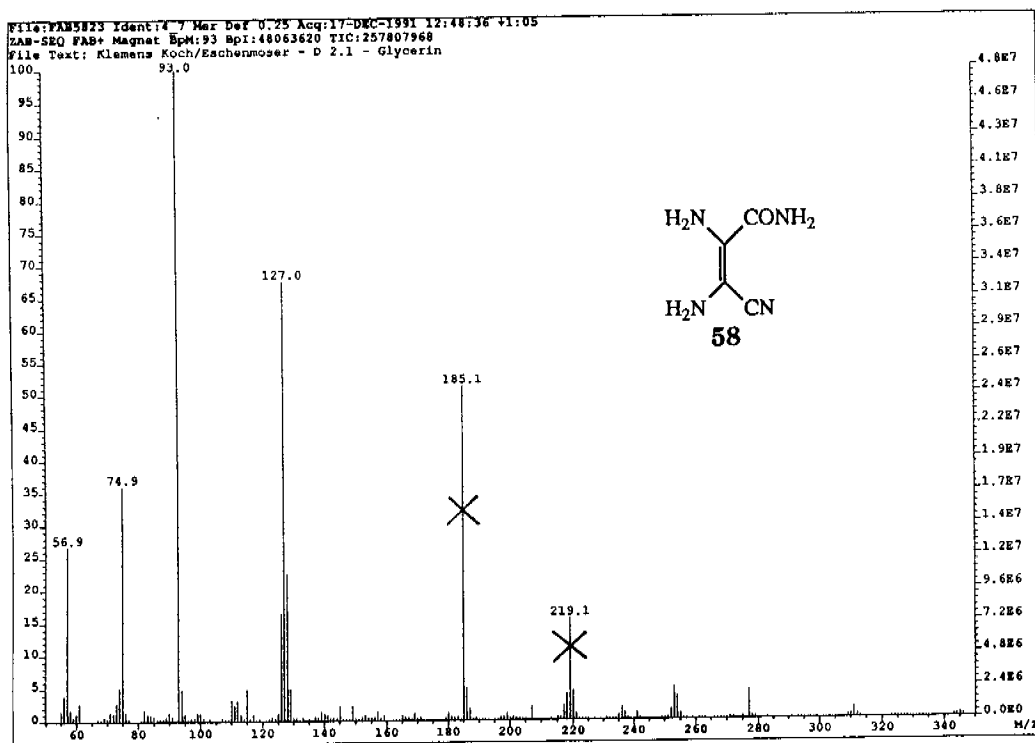
100MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Diaminomaleinsäurenitrilamid 58 in  $d_6\text{-DMSO}$



IR-Spektrum von Diaminomaleinsäurenitrilamid 58 in KBr



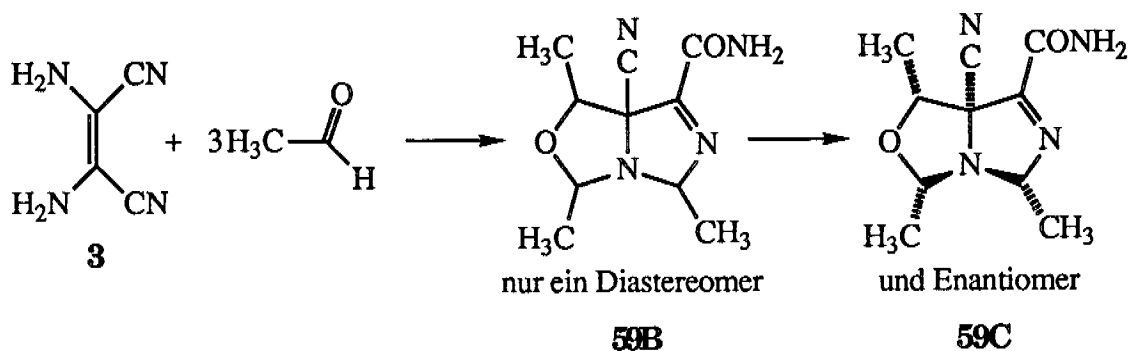
UV-Spektrum von Diaminomaleinsäurenitrilamid 58 in H<sub>2</sub>O



pos. FAB-MS-Spektrum von Diaminomaleinsäurenitrilamid 58 in Glycerin

**2.2. 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo [3.3.0]-2-octen (unbekannte, aber einheitliche Konfiguration der Methylgruppen)**

**rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo [3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR )**



52ml gekühltes ( $4^\circ\text{C}$ ) Acetaldehyd ( $d=0.78$ , 40.6g, 922mmol) wurden in 500ml 0.2M Natriumphosphatpuffer bei pH 7.0 und RT gelöst. 10.05g im Mörser pulverisiertes Diaminomaleinsäuredinitril **3**<sup>1</sup> wurden zugegeben, wobei es sich langsam löste und ein neuer weißer Niederschlag ausfiel. Nach 48h Rühren bei RT war in der Suspension kein Edukt mehr zu sehen (beim Anhalten des Rührwerkes setzte es sich immer schnell an den Kolbenboden). Nach Abfiltrieren, Waschen mit Wasser und Trocknen (HV/RT/24h) erhielt man 10.50g weißes Pulver. Davon wurden 5.00g in ca. 600ml Methylenchlorid bei RT gelöst, und während einigen Tage bei  $-20^\circ\text{C}$  im Tiefkühler kristallisiert. Nach erneutem Filtrieren, Waschen mit wenig eisgekühltem Methylenchlorid und Trocknen (HV/RT/24h) erhielt man 4.10g weiße, feine Plättchen. Die analytischen Daten waren identisch mit jenen des Rohproduktes, mit Ausnahme des Auftretens von Signalen von wahrscheinlich anderen

<sup>1</sup>Aus dem käuflichen, fast schwarzen Diaminomaleinsäuredinitril (Fluka pract.) durch Lösen in 2-Propanol, Entfärben mit Aktivkohle, über Celite Filtrieren, Einengen am Rotationsverdampfer bei RT und Lösen in heißem 2-Propanol, woraus es beim Abkühlen in farblosen - nur an der Oberfläche leicht bräunlichen - langen Nadeln kristallisiert.

Diastereoisomeren im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des letzteren, die allerdings unbedeutend waren (<2%). Die analytischen Daten sprachen für eine diastereomere Form des nachfolgend beschriebenen Produktes rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) **59C**, also für 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen **59B** (mit unbekannter, aber einheitlich diastereomerer Konfiguration der Methylgruppen).

Analytische Daten von 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen **59B** (unbekannte, aber einheitlich diastereomere Konfiguration der Methylgruppen):

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$  222.24

Smp. 160-162°C (Zersetzung, im abgeschmolzenen Röhrchen)

MS EI  
223 (1, M+1), 207 (2), 196 (4), 178 (96), 163 (100), 161 (76), 146 (21), 134 (19), 120 (34), 108 (23), 93 (37), 80 (12), 66 (17), 54 (21), 44 (50)

EA	ber.	C 54.04	H 6.35	N 25.21	O 14.40
	gef.	C 54.00	H 6.39	N 25.61	

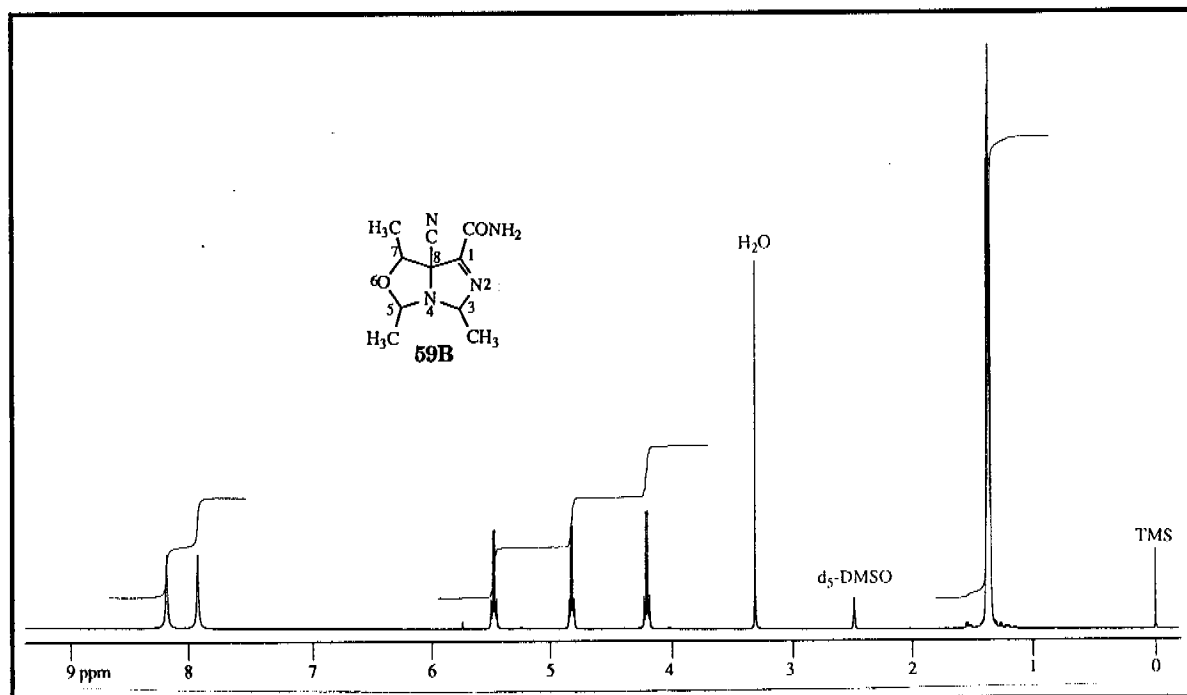
DC  $R_f$  0.75, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2,5% Hexan, 2,5% Essigsäure), Detektion: UV

$^1\text{H-NMR}$  400 MHz,  $d_6$ -DMSO  
1.37 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ ,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.38 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ ,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.39 (d,  $J=5.9\text{Hz}$ ,  $\text{CHCH}_3$ , alle Methylgruppen 9H), 2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 3.32 (s,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 4.21 (q,  $J=6.5\text{Hz}$ , 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 4.84 (q,  $J=5.9\text{Hz}$ , 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 5.49 (q,  $J=6.4\text{Hz}$ , 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 7.95 (s breit, 1H,  $\text{CONH}^1\text{H}^2$ ), 8.21 (s breit, 1H,  $\text{CONH}^1\text{H}^2$ )

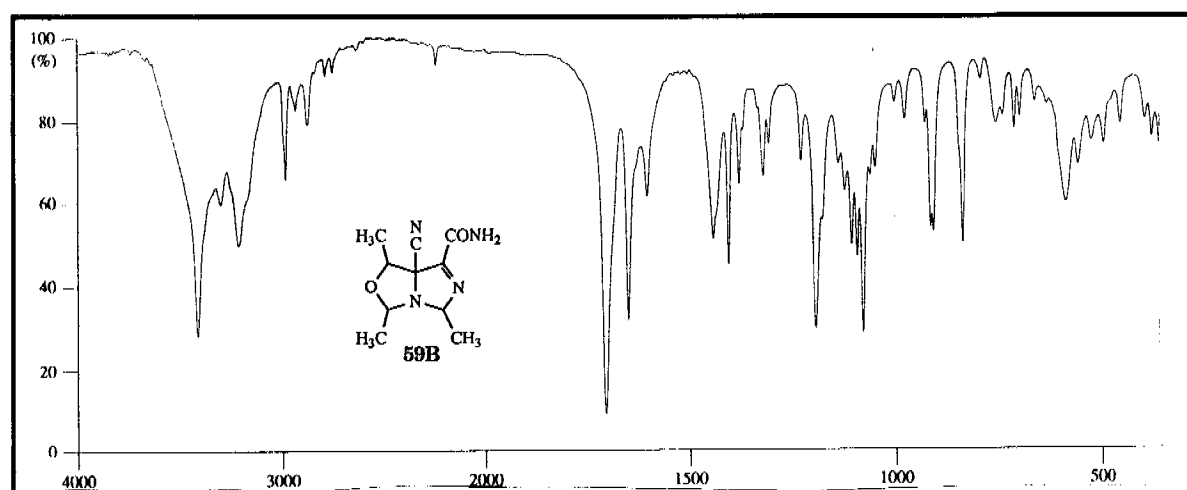
$^{13}\text{C-NMR}$  100 MHz,  $d_6$ -DMSO  
14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 17.0 ( $\text{CH}_3$ ), 23.6 ( $\text{CH}_3$ ), 39.5 (hept,  $d_6$ -DMSO), 77.1 ( $\text{CHCH}_3$ ), 78.5 (C(5)), 84.4 ( $\text{CHCH}_3$ ), 88.0 ( $\text{CHCH}_3$ ), 116.7 (C(5)CN), 159.8, 160.8 (C(4) und C(4)CONH<sub>2</sub>)

IR KBr  
3415 s sh, 3300 w, 3215 m sh, 2982 m, 2938 w sh, 2877 w, 2790 w, 2755 w, 2248 w, 1706 vs, 1650 s, 1604 m, 1442 m sh, 1404 s,

1378 m sh, 1320 m sh, 1306 w, 1228 w, 1991 s sh, 1136 w, 1120 w,  
1104 m, 1091 m, 1077 s, 1059 w, 1047 w, 1000 w, 976 w, 926 w,  
911 m, 902 m, 831 m sh, 788 w, 749 w, 731 w, 702 w, 690 w, 652 w,  
623 w, 578 m sh, 549 w, 517 w, 485 w, 446 w, 387 w, 369 w

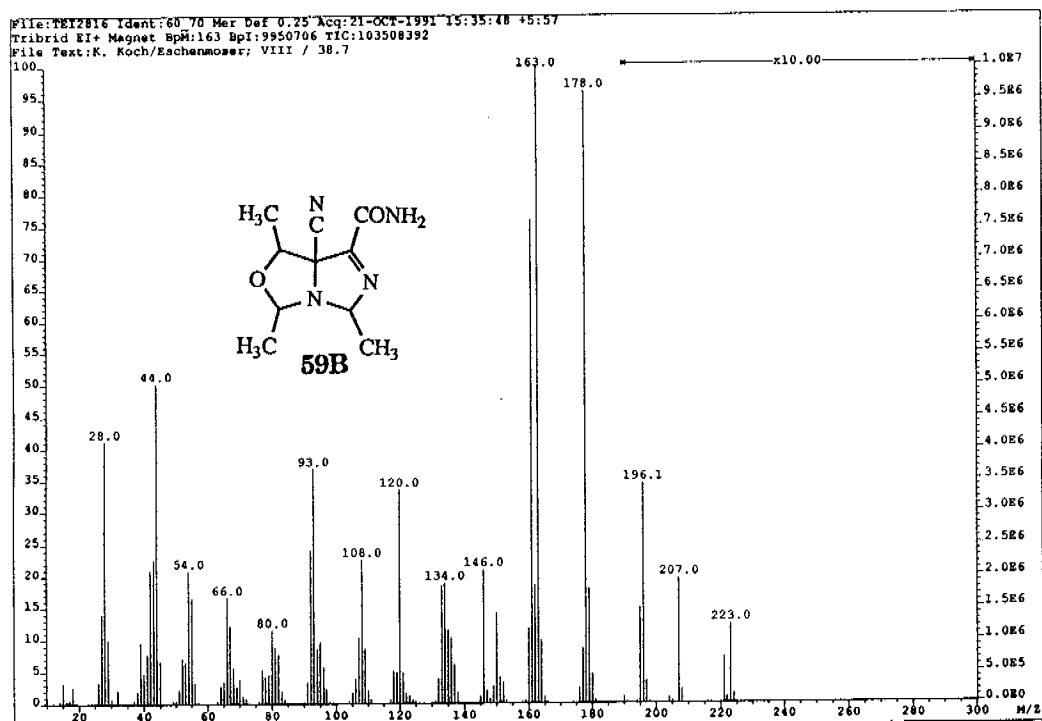
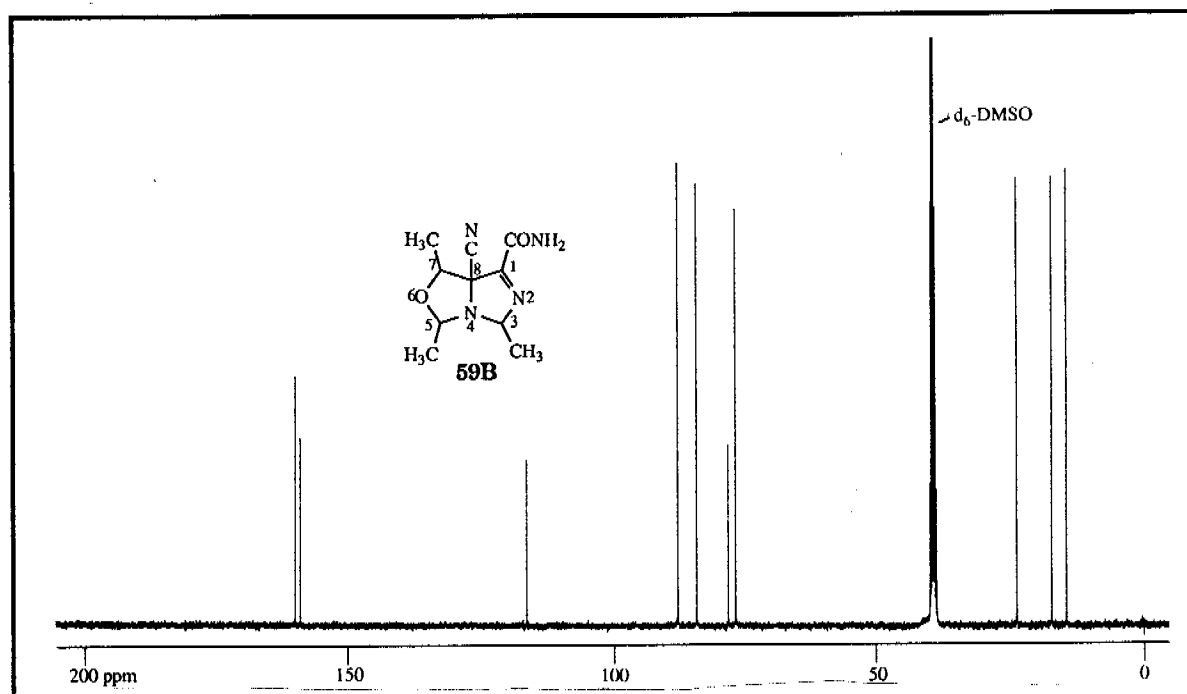


400MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen **59B** (unbekannte, aber einheitliche Konfiguration der Methylgruppen) in d<sub>6</sub>-DMSO



IR-Spektrum von 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen **59B** (unbekannte, aber einheitliche Konfiguration der Methylgruppen) in KBr





Das erhaltene Produkt konnte auch in siedendem Methylenchlorid gelöst werden, woraus beim Abkühlen bis RT und dann bis  $-20^{\circ}\text{C}$  im Tiefkühler lange, weisse Nadeln der wahrscheinlich diastereomeren Form **59C** kristallisierten.

Analytische Daten von rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) **59C**:

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$  222.24

Smp. 185-188°C (Zersetzung)

MS EI  
223 (2, M+1), 207 (3), 196 (4), 178 (93), 163 (100), 161 (77), 146 (14), 133 (15), 120 (24), 108 (20), 93 (28), 80 (7), 66 (9), 54 (9), 44 (19)

EA	ber.	C 54.04	H 6.35	N 25.21	O 14.40
	gef.	C 54.38	H 6.50	N 25.41	

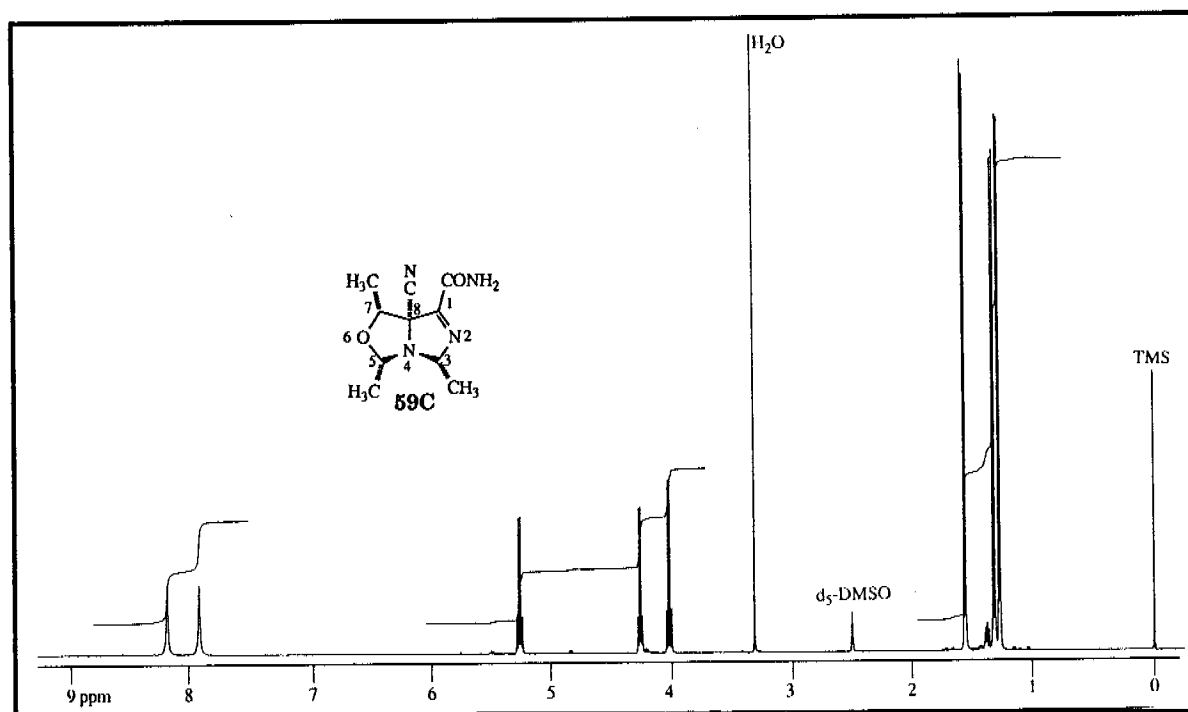
DC  $R_f$  0.70, Kieselgel (95% Ethylacetat, 2.5% Hexan, 2.5% Essigsäure), Detektion: UV

$^1\text{H-NMR}$  400 MHz,  $d_6$ -DMSO  
1.28 (d,  $J=5.2\text{Hz}$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.32 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.56 (d,  $J=6.1\text{Hz}$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 3.32 (s,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 4.02 (q,  $J=6.1\text{Hz}$ , 1H,  $\text{CH-CH}_3$ ), 4.26 (q,  $J=5.2\text{Hz}$ , 1H,  $\text{CH-CH}_3$ ), 5.26 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H,  $\text{CH-CH}_3$ ), 7.92 (s breit, 1H,  $\text{CONH}^1\text{H}^2$ ), 8.19 (s breit, 1H,  $\text{CONH}^1\text{H}^2$ )

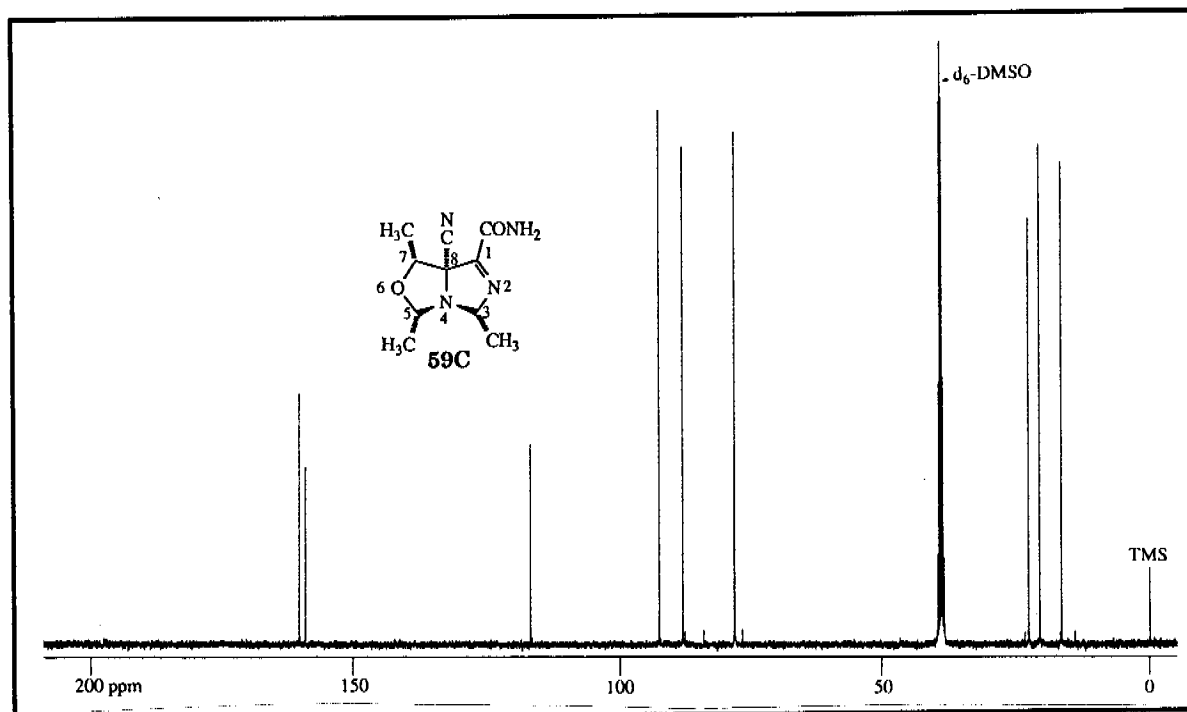
$^{13}\text{C-NMR}$  100 MHz,  $d_6$ -DMSO  
16.7 ( $\text{CH}_3$ ), 20.8 ( $\text{CH}_3$ ), 22.9 ( $\text{CH}_3$ ), 39.4 (hept,  $d_6$ -DMSO), 78.5 ( $\text{CHCH}_3$ ), 78.7 (C(5)), 88.4 ( $\text{CHCH}_3$ ), 92.8 ( $\text{CHCH}_3$ ), 117.0 (C(5)CN), 159.7, 160.9 (C(4) und C(4)CONH<sub>2</sub>)

IR KBr  
3431 s sh, 3290 m, 3208 m sh, 3165 m, 2990 m, 2976 m, 2931 m, 2883 m, 2237 w, 1703 vs, 1644 s, 1601 m, 1440 m sh, 1427 w, 1397 w, 1382 m, 1375 w, 1342 w, 1320 m, 1305 w, 1293 m, 1210 m, 1168 s, 1141 m, 1131 m, 1123 m sh, 1089 s, 1036 w, 1010 w, 977 w,

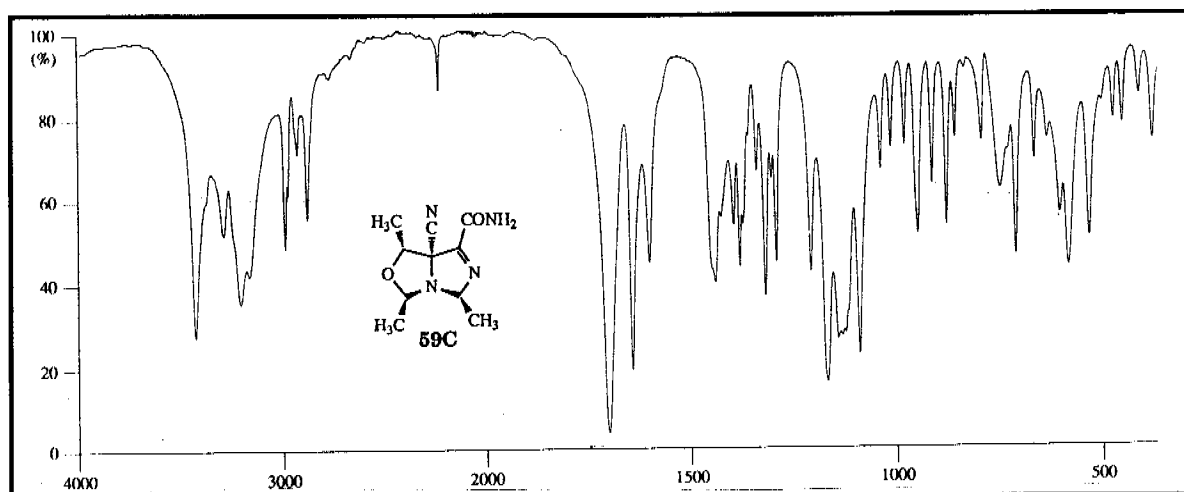
944 m, 908 w, 873 m, 852 w, 829 w, 787 w, 742 m sh, 705 s, 659 w,  
628 w, 597 w, 576 m, 525 m, 495 w, 467 w, 445 w, 404 w, 371 w



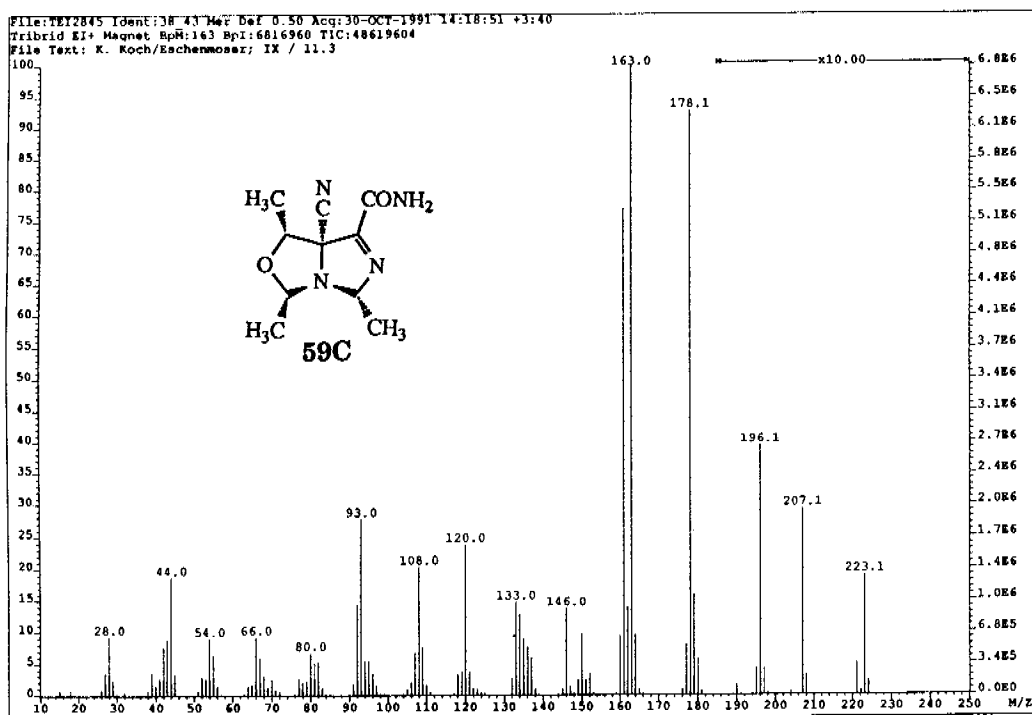
400MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) **59C** in d<sub>5</sub>-DMSO



100MHz-<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) **59C** in d<sub>6</sub>-DMSO



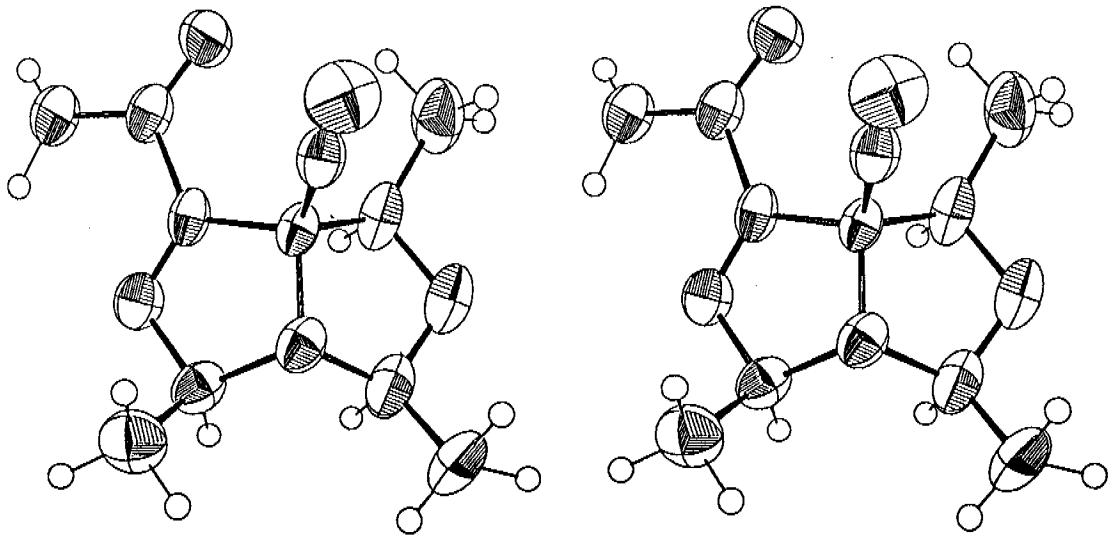
IR-Spektrum von rac-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo [3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) 59C in KBr



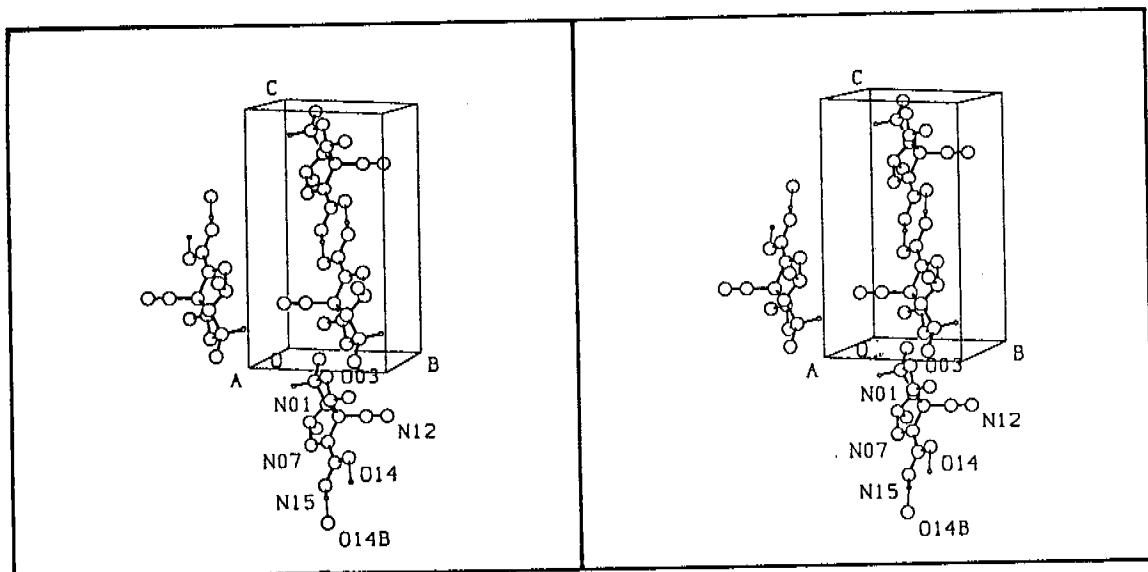
EI-Massenspektrum von rac-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo [3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) 59C

Kristallstruktur-Analyse: Ein Kristall von rac.-3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR) **59C** aus einem - wie oben beschriebenen - Kristallisationsansatz in - aus der Siedehitze abkühlendem - Methylenchlorid wurde zu einer Kristallstrukturanalyse herangezogen, die von Dr. B. Schweizer, ETH Zürich durchgeführt wurde:

Kristall:	0.8 x 0.24 x 0.48 mm		
Raumgruppe	triklin, P1		
Zelle:	a= 6.396(3)Å, b=7.125(4)Å, c=13.657(11)Å, α= 92.84(6) β= 98.26(5) γ=111.04(4)° (DETH)		
THLIM =	1.00 25.00		
SCAN =	0.90 0.35 2.00 3.50 6		
INT =	0.750 0.030 3 90 0		
FLAG =	0 0 0		
PSI =	BISECT		
	21 25.00 0.10 1.000000 0.000000 0.000000		
MODE =	ZIGZAG		
	0 7 -8 8 -16 16		
	0 0 0		
	LKH		
ABSENT=	0		
INTCR =	10000 0.010 0.700		
ORIENT=	100-0.3		
BACKG =	0 2.00 1.50		
d <sub>x</sub>	1.297 g/cm <sup>3</sup>		
μ	0.09 mm <sup>-1</sup>		
F <sub>000</sub>	236		
R =	050	R <sub>w</sub> =	046
w =	1/σ(F) <sup>2</sup>	ref. parameters =	201
Greatest shift/σ=	0.142 for H152 U11	V =	571.56
MU =	0.58 mm <sup>-1</sup> .	I > 3 σ(I) =	1190

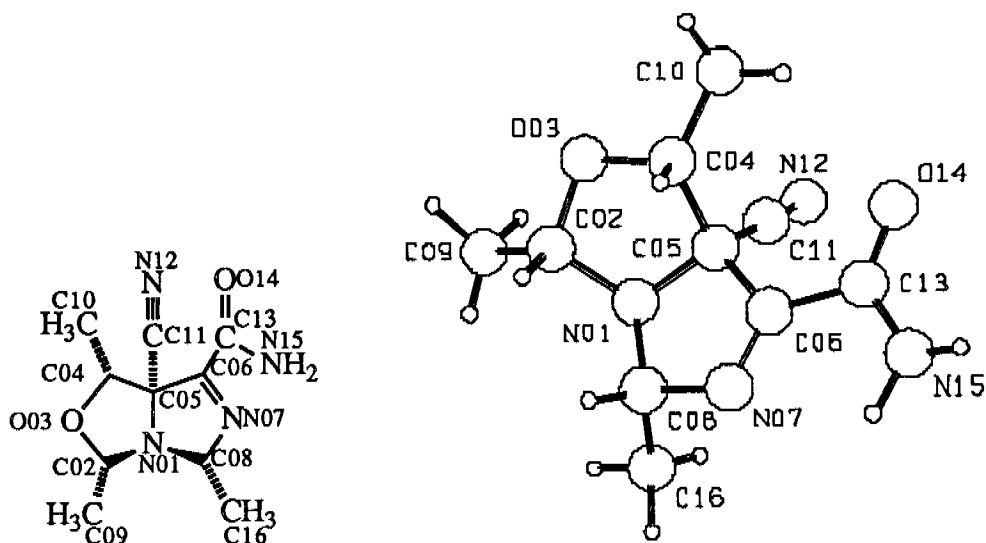


**3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen 1R, 4R, 6S, 8R, ein Enantiomer von 59C als Stereobild aus der Röntgenstrukturanalyse (ORTEP-Plot).**



**Eine Raumzelle im Kristall von 59C mit einem Enantiomerenpaar von 3,5-Diaza-7-oxa-2-carbamoyl-1-cyano-4,6,8-trimethylbicyclo[3.3.0]-2-octen (1SR, 4SR, 6RS, 8SR).**

Folgende Atomnumerierung wurde gewählt:



### Bindungslängen in Å (Standardabweichungen)

C02 - C09	1.505(6)	C02 - N01	1.498(5)
C02 - O03	1.414(5)	C04 - C05	1.582(5)
C04 - C10	1.501(7)	C04 - O03	1.431(5)
C05 - C06	1.510(4)	C05 - C11	1.483(5)
C05 - N01	1.460(4)	C06 - C13	1.515(5)
C06 - N07	1.266(4)	C08 - C16	1.526(6)
C08 - N01	1.471(4)	C08 - N07	1.471(5)
C11 - N12	1.131(4)	C13 - N15	1.324(5)
C13 - O14	1.223(4)		

### Bindungswinkel in Grad (Standardabweichungen)

C09 - C02 - N01	112.0(4)	C09 - C02 - O03	109.0(4)
N01 - C02 - O03	104.2(3)	C05 - C04 - C10	117.7(4)
C05 - C04 - O03	100.2(3)	C10 - C04 - O03	109.1(4)
C04 - C05 - C06	114.3(3)	C04 - C05 - C11	111.7(3)
C04 - C05 - N01	104.3(3)	C06 - C05 - C11	112.9(3)
C06 - C05 - N01	101.9(3)	C11 - C05 - N01	110.9(3)
C05 - C06 - C13	122.3(3)	C05 - C06 - N07	115.3(3)
C13 - C06 - N07	122.3(3)	C16 - C08 - N01	113.1(3)
C16 - C08 - N07	108.3(4)	N01 - C08 - N07	107.5(3)
C05 - C11 - N12	179.1(4)	C06 - C13 - N15	114.4(4)
C06 - C13 - O14	118.9(3)	N15 - C13 - O14	126.7(4)

C02 - N01 - C05	107.1(3)	C02 - N01 - C08	115.2(3)
C05 - N01 - C08	107.4(3)	C06 - N07 - C08	107.7(3)
C02 - O03 - C04	107.8(3)		

**Torsionswinkel in Grad (Standardabweichungen)**

C09 C02 N01 C05	135.5( 3)	C09 C02 N01 C08	-105.2( 4)
O03 C02 N01 C05	17.7( 3)	O03 C02 N01 C08	137.0( 3)
C09 C02 O03 C04	-157.8( 3)	N01 C02 O03 C04	-38.1( 3)
C10 C04 C05 C06	103.6( 4)	C10 C04 C05 C11	-26.0( 4)
C10 C04 C05 N01	-145.9( 3)	O03 C04 C05 C06	-138.4( 3)
O03 C04 C05 C11	92.0( 3)	O03 C04 C05 N01	-27.9( 2)
C05 C04 O03 C02	41.0( 3)	C10 C04 O03 C02	165.1( 3)
C04 C05 C06 C13	-68.3( 3)	C04 C05 C06 N07	107.5( 3)
C11 C05 C06 C13	60.8( 3)	C11 C05 C06 N07	-123.4( 4)
N01 C05 C06 C13	179.9( 3)	N01 C05 C06 N07	-4.3( 3)
C04 C05 C11 N12	-38.6( 19)	C06 C05 C11 N12	-169.0( 19)
N01 C05 C11 N12	77.3( 19)	C04 C05 N01 C02	6.6( 2)
C04 C05 N01 C08	-117.7( 2)	C06 C05 N01 C02	125.7( 2)
C06 C05 N01 C08	1.4( 2)	C11 C05 N01 C02	-113.9( 3)
C11 C05 N01 C08	121.9( 3)	C05 C06 C13 N15	-174.1( 4)
C05 C06 C13 O14	4.0( 4)	N07 C06 C13 N15	10.3( 4)
N07 C06 C13 O14	-171.6( 5)	C05 C06 N07 C08	5.2( 3)
C13 C06 N07 C08	-179.0( 4)	C16 C08 N01 C02	122.5( 3)
C16 C08 N01 C05	-118.3( 3)	N07 C08 N01 C02	-118.0( 3)
N07 C08 N01 C05	1.2( 3)	C16 C08 N07 C06	118.5( 3)
N01 C08 N07 C06	-3.9( 3)	N07 C08 N01 C05	1.2( 3)

**Intermolekulare Distanzen in Å**  
(Standardabweichungen)

N15 O14A	2.940(5)
H151 O14A	2.15(4)

Symmetrieoperation: 1= x,y,z; 2= -x,-y,-z

2	1.	1.	1.
2	1.	1.	1.

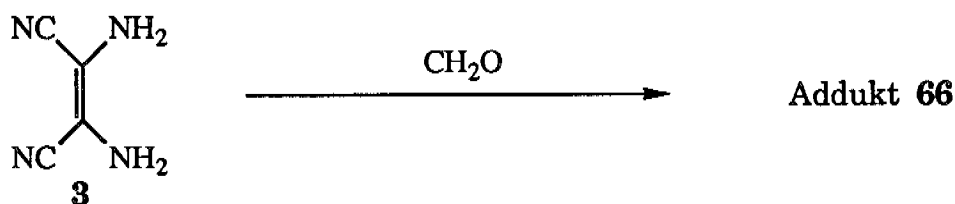
**Atomkoordinaten (Standardabweichungen)**

Atom	x/a	y/b	z/c	U or U11	U22	U33	U23	U13	U12
C02	-.0526(8)	.1787(7)	.8712(3)	.091(4)	.063(3)	.039(3)	.007(2)	.015(2)	.035(3)
C04	.2781(7)	.3880(7)	.8255(3)	.066(3)	.084(3)	.033(2)	.007(2)	.009(2)	.042(3)
C05	.0746(6)	.3932(5)	.7463(2)	.049(2)	.046(2)	.029(2)	.003(2)	.010(2)	.022(2)
C06	.0665(6)	.3046(6)	.6425(3)	.051(3)	.051(2)	.030(2)	.002(2)	.008(2)	.031(2)



C08	-.2343(7)	.0855(6)	.6915(3)	.061(3)	.045(3)	.047(2)	.006(2)	.022(2)	.025(2)
C09	-.209(1)	.172(1)	.9447(4)	.105(5)	.094(4)	.051(3)	.012(3)	.039(3)	.022(4)
C10	.4783(9)	.582(1)	.8572(4)	.055(3)	.116(5)	.051(3)	-.002(3)	-.006(3)	.026(3)
C11	.0624(6)	.5974(6)	.7490(3)	.049(3)	.051(3)	.037(2)	.001(2)	.012(2)	.023(2)
C13	.2446(7)	.4047(6)	.5798(3)	.055(3)	.058(3)	.036(2)	.004(2)	.015(2)	.032(2)
C16	-.4741(8)	.0674(9)	.6464(4)	.052(3)	.078(4)	.073(4)	.006(3)	.012(3)	.025(3)
N01	-.1278(5)	.2464(4)	.7748(2)	.058(2)	.048(2)	.040(2)	.007(2)	.015(2)	.026(2)
N07	-.0915(5)	.1347(5)	.6139(2)	.052(2)	.052(2)	.043(2)	.001(2)	.012(2)	.025(2)
N12	.0538(6)	.7533(5)	.7523(3)	.083(3)	.058(2)	.083(3)	.008(2)	.029(2)	.040(2)
N15	.2004(7)	.3169(6)	.4875(3)	.073(3)	.073(3)	.037(2)	-.003(2)	.024(2)	.020(2)
O03	.1637(5)	.3290(4)	.9082(2)	.082(2)	.085(2)	.036(2)	.010(2)	.008(2)	.039(2)
O14	.4073(5)	.5568(4)	.6164(2)	.063(2)	.063(2)	.051(2)	-.007(2)	.022(2)	.009(2)
H021	-.038(7)	.021(6)	.849(3)	.10(2)					
H041	.321(6)	.248(5)	.796(3)	.06(1)					
H081	-.236(5)	-.046(5)	.713(2)	.04(1)					
H091	-.190(8)	.343(7)	.962(4)	.12(2)					
H092	-.353(7)	.075(6)	.912(3)	.08(2)					
H093	-.147(8)	.160(7)	1.018(4)	.12(2)					
H101	.434(7)	.698(6)	.892(3)	.10(2)					
H102	.560(9)	.617(8)	.796(4)	.15(2)					
H103	.583(8)	.565(7)	.909(3)	.10(2)					
H151	.287(6)	.348(5)	.448(3)	.06(1)					
H152	.09(1)	.158(8)	.465(4)	.17(3)					
H161	-.474(6)	.201(6)	.630(3)	.06(1)					
H162	-.555(8)	-.053(7)	.590(3)	.10(2)					
H163	-.571(8)	.032(7)	.700(3)	.11(2)					

### 2.3. Reaktion von Diaminomaleinsäuredinitril mit Formaldehyd in Salzsäure 0.2M



8.5g (78.7mmol) pulverisiertes Diaminomaleinsäuredinitril **3**<sup>1</sup> wurden in 700ml Salzsäure 0.2N suspendiert. Unter starkem Rühren wurden 20.5ml Formalin (d=1.08, 36.5%, 270mmol, 3.42 Äquivalente) zugegeben, wobei sich sofort ein neuer, weisser Niederschlag bildete. Nach weiterem Rühren bei RT über 22h war von Auge nur noch wenig vom leicht gelblichen Edukt sichtbar. Der neu entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und schliesslich getrocknet (HV/RT/24h). Er enthielt nach <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum noch geringe (ca. 5%) Anteile an Diaminomaleinsäuredinitril **3**. Zu dessen Entfernung wurde er bei RT im Minimum Aceton gelöst und diese Lösung mit Pentan bis zur beginnenden Trübung versetzt. Über 24h bei -20°C kristallisierte **66** in feinen Fasern aus dieser, leicht getrübbten Lösung. Das leicht gelbliche **66** wurde abfiltriert und getrocknet (HV/RT/24h) und ergab so 7.1g Produkt **66**.

Analytische Daten von **66**:

Smp.            Zersetzung ab 170°C

<sup>1</sup>H-NMR        400MHz, d<sub>6</sub>-DMSO

2.09 (Aceton), 2.50 (m, d<sub>5</sub>-DMSO), 3.32 (H<sub>2</sub>O), 3.98 (s, 2H,

---

<sup>1</sup>Aus dem käuflichen, fast schwarzen Diaminomaleinsäuredinitril (Fluka pract.) durch Lösen in 2-Propanol, Entfärben mit Aktivkohle, über Celite Filtrieren, Einengen am Rotationsverdampfer bei RT und Lösen in heissem 2-Propanol, woraus es beim Abkühlen in farblosen - nur an der Oberfläche leicht bräunlichen - langen Nadeln kristallisiert.

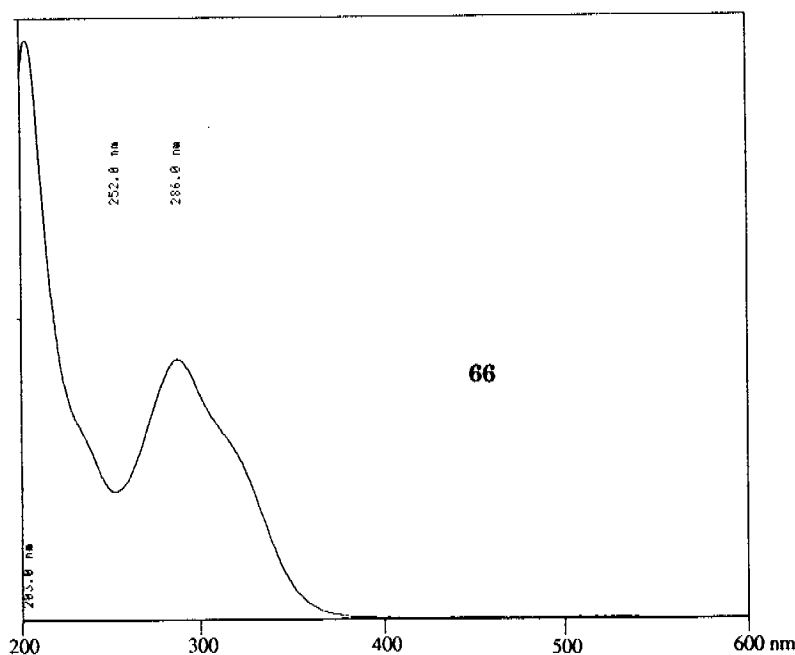
-C(4')H<sub>2</sub>-), 4.03 (d, J=13.4Hz, 2H, -C(2')H<sup>1</sup>H<sup>2</sup>- und -C(6')H<sup>1</sup>H<sup>2</sup>-),  
4.34 (d, J=13.4Hz, 2H, -C(2')H<sup>1</sup>H<sup>2</sup>- und -C(6')H<sup>1</sup>H<sup>2</sup>-), 7.88 (s breit,  
2H, C(2)-NH<sub>2</sub>, tauscht mit TFA in D<sub>2</sub>O aus)

NOE-Experiment; 360MHz, d<sub>6</sub>-DMSO

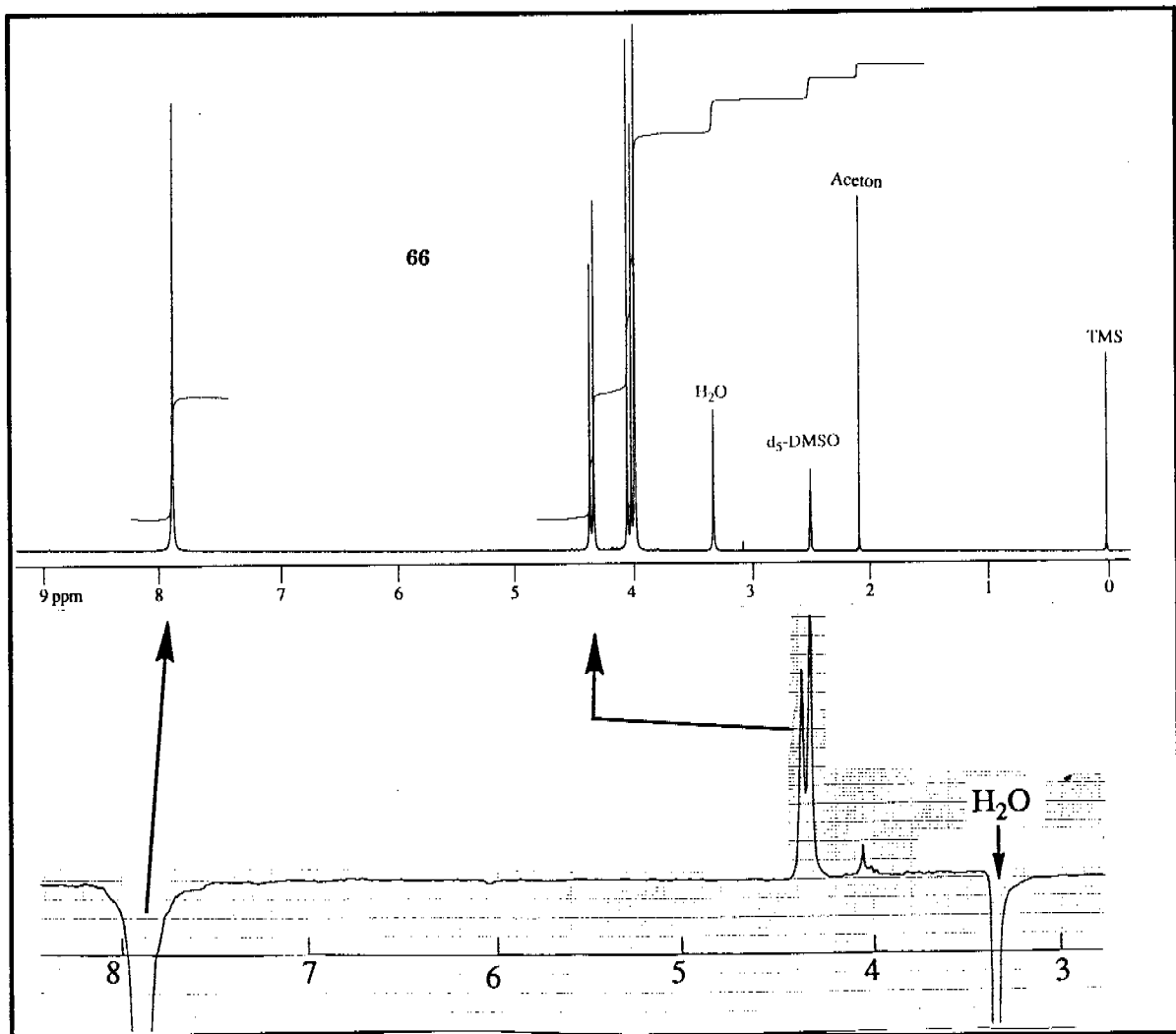
Einstrahlung bei 7.88ppm (C(2)-NH<sub>2</sub>): Verstärkung des Signals  
bei 4.34ppm (-C(2')H<sup>1</sup>H<sup>2</sup>- und/oder -C(6')H<sup>1</sup>H<sup>2</sup>-)

<sup>13</sup>C-NMR 100MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
39.4 (hept, d<sub>6</sub>-DMSO), 63.7 (s, -C(2')H<sub>2</sub>- und -C(6')H<sub>2</sub>-), 69.8  
(-C(4')H<sub>2</sub>-), 102.5 (C(3)), 114.5, 116.9 (C(1)N und C(4)N),  
123.2 (C(2))

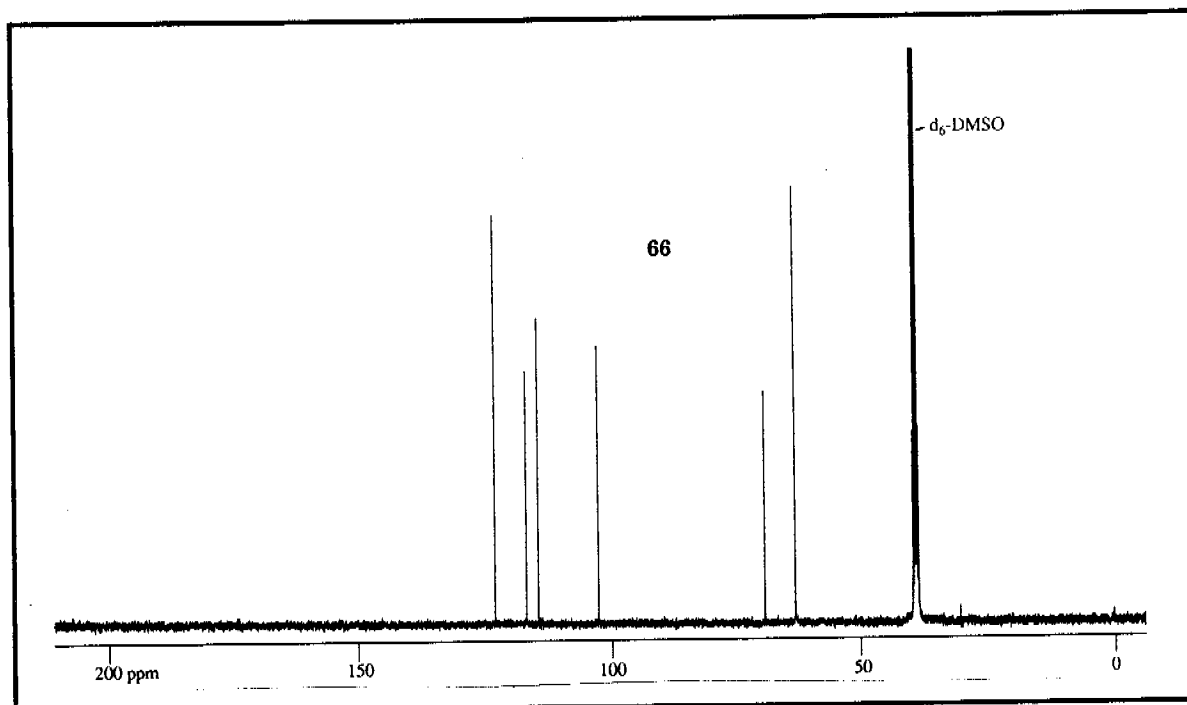
IR KBr  
3328 m sh, 3292 s, 3119 w, 3026 w, 2981 w, 2952 w, 2918 w, 2879 w,  
2224 m, 2203 vs, 2152 w, 1698 w, 1600 vs, 1518 vs, 1470 m, 1439 w,  
1379 vs sh, 1328 m, 1292 s, 1248 s, 1221 s, 1122 m, 1062 m,  
1000 m sh, 982 m, 953 m, 884 m, 721 m, 626 w, 597 w sh, 552 m,  
513 w sh, 475 w, 440 w, 420 w, 372 w



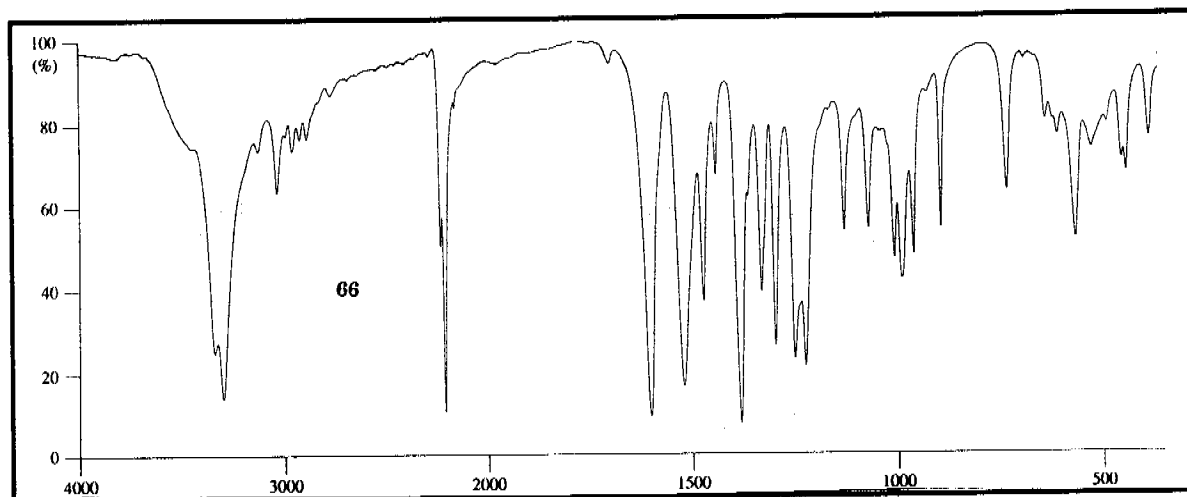
UV-Spektrum vom Reaktionsprodukt 66, aufgenommen in H<sub>2</sub>O bei pH 7



400 MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **66** in  $d_6\text{-DMSO}$  (oben). Dazugehöriges NOE-Experiment mit Einstrahlung bei 7.88ppm und Verstärkung des Signals bei 4.34ppm (unten)



100MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von **66** in  $d_6$ -DMSO

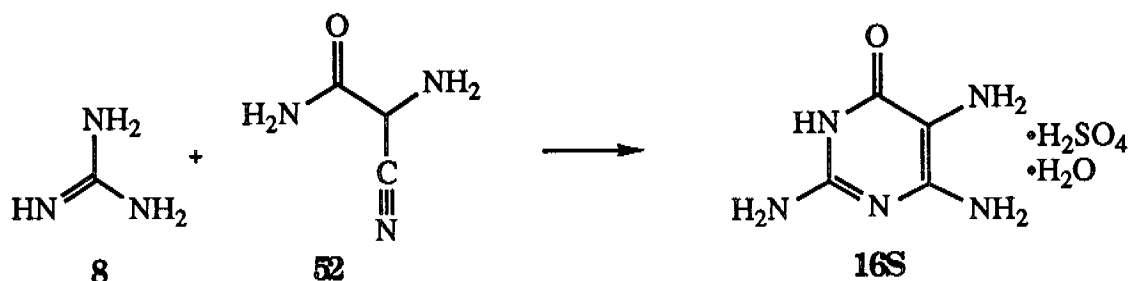


IR-Spektrum von **66** in KBr

Seite Leer /  
Blank leaf

### 3. PYRIMIDINE

#### 3.1. 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon



Im Handschuhkasten wurden 885mg (15mmol) darin (trocken) aufbewahrtes Guanidin **8** in einen, mit einem Magnetrührer versehenen 10ml-Kolben gefüllt, ausgeschleust und mit 299mg (3mmol) Aminomalonsäurenitrilamid **52** versetzt. Der Kolben wurde unter Hochvakuum vorsichtig ins, auf 40°C erwärmte Ölbad getaucht. Die gelbliche, gerührte Schmelze entwickelte Gas während ca. 2h. Nach 3h liess man abkühlen, schlämmte in ca. 2ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N auf und versetzte mit 0,5ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz. Die Suspension wurde über eine Glasfritte (D4) filtriert, der Filterkuchen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N gewaschen und schliesslich in ca. 150ml siedender H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N gelöst und bei RT kristallisieren lassen. Nach Abfiltrieren und Trocknen (24h/HV/RT) erhielt man 410mg (53%) weisse, nadelförmige Kristalle von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfat-hydrat **16S** (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O•H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O).

Analytische Daten von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfat-hydrat **16S**

C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O•H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O 257.22

DC R<sub>f</sub> 0.22, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol 1:2:4),  
Detektion: UV und Ninhydrin: gelb

<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz, ca. 10% NaOD in D<sub>2</sub>O  
103.7 (C(5)), 156.6, 160.0, 171.5 (C(2), C(4) und C(6))

IR KBr  
3323 m sh, 3091 b sh, 2711 w, 1717 s, 1667 vs sh, 1584 m sh,

1507 s sh, 1447 s, 1402 w, 1199 m, 1160 m, 1129 m, 1065 b sh,  
1043 s, 1000 m, 981 m, 886 w, 794 w, 750 w, 684 w, 661 w,  
818 m sh, 540 s, 487 w, 470 w, 444 w, 388 w

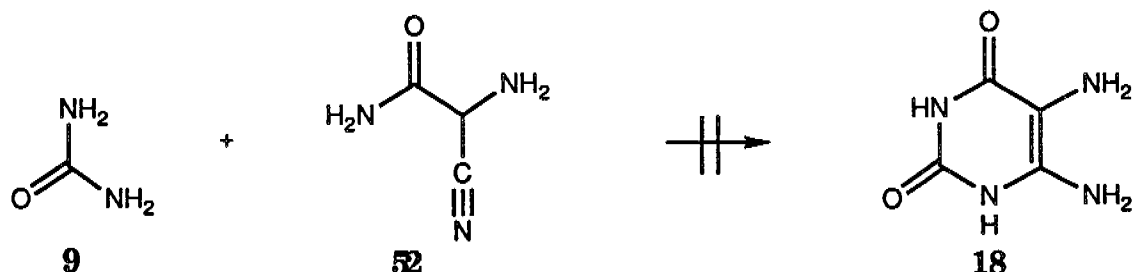
UV

pH 1

$\lambda_{\max}$ : 265nm, 209nm



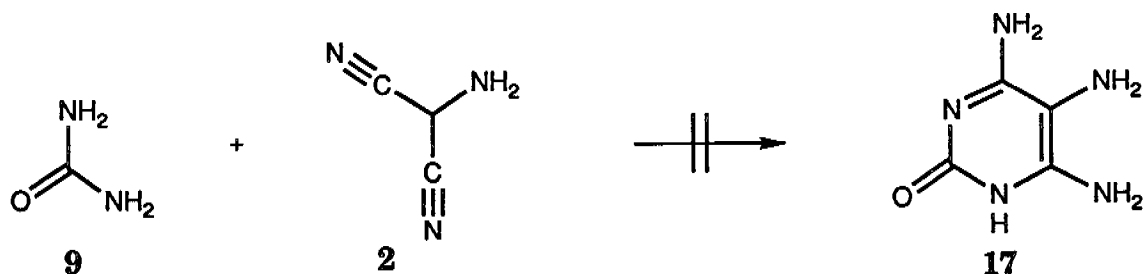
### 3.2. Reaktion von Aminomalonsäurenitrilamid mit Harnstoff



Nr.	Edukte	Bedingungen/Aufarbeitung	Analytik/Produkte
1	2mmol 9 2mmol 52	Schmelze 105°C, 1,5 h, HV dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	DC: UV-aktiver Startfleck fluoreszierende Produkte, kein 18
2	4mmol 9 2mmol 52	wie bei 1	wie bei 1
3	1mmol 9 1mmol 52	5ml MeOH, 62°C, 6h einengen, HCl	DC UV-aktiver Startfleck Zers. von 52, fluoreszieren- de Produkte, kein 18
4	4mmol 9 2mmol 52	4ml MeCN, 80°C, 17h	DC: UV-aktiver Startfleck, kein 18, immer noch 52
5	siehe 4	9 wird in MeOH mit 4mmol NaOMe rückflusiert, 52 in MeOH zugetropft	DC: UV-aktiver Startfleck fluoreszierende Produkte, kein 18
6	siehe 4	52 wird in MeOH rück- flusiert, schnell 0,4mmol NaOMe in MeOH dazu, dann 9 in MeOH	wie bei 5
7	siehe 4	52 wird mit 1mmol H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> in H <sub>2</sub> O co-lyophilisiert, dann Schmelze mit 9 135°C, 10 min	DC: UV-aktiver Start- fleck, UV-aktiver Fleck mit höherem R <sub>f</sub> als 18 Ninhydrin-aktiver Fleck, kein 18
8	siehe 4	wie 7 aber Schmelze 100°C, 6h	wie 7
9	siehe 4	Schmelze 95-100°C 2h, HV	UV (in H <sub>2</sub> O, pH 6,5): 344 nm, 271nm <sup>1</sup> H-NMR (d <sub>6</sub> -DMSO): kein 18

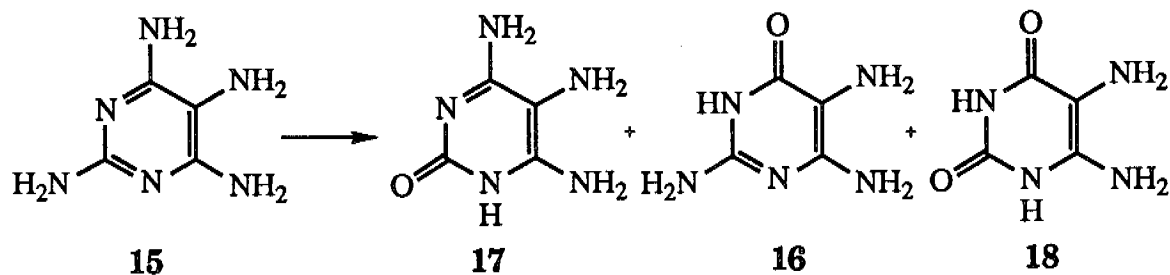
10	siehe 4	2ml 1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90°C, 4h	DC wenig 52, Zers.- produkte, kein 18 UV (pH 1): 272 nm (18: 260 nm)
11	siehe 4	Schmelze mit 0,2mmol TBD 80°C, 2h	DC: UV-aktiver Start- fleck, kein 18 UV (pH 11): 367 nm <sup>1</sup> H-NMR: Zers. von 52
12	siehe 4	Schmelze mit 0,16mmol p-TosOH 80°C, 4h, HV	UV (pH 2): 345 nm Zersetzungsprodukte von 52
13	siehe 4	Schmelze mit 0,16mmol p-TosOH 120°C, 3h, HV	UV: wie bei 12 DC: brauner Startfleck kein 18
14	siehe 4	9 mit 0,55mmol p-TosOH am HV geschmol- zen, 52 dazugegeben 130°C, 5 min	DC: brauner Startfleck kein 18, UV (pH 2): 365 nm, Zersetzung von 52
15	10mmol 9 2mmol 52	Schmelze 95°C, 5h, HV dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	HPLC: kein 18
16	5mmol 9 2mmol 52	1ml Tetramethylharnstoff 65-100°C, 4h abdampfen H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HPLC: kein 18
17	60mmol 9 3mmol 52	Zu geschmolzenem 9 bei 160°C wird 52 in MeCN getropft, 40min, dann verdünnte H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> bei RT	HPLC: kein 18
18	4mmol 9 1mmol 52	5ml MeOH, 60°C, 7d	HPLC: kein 18
19	siehe 18	siehe 18, zusätzlich 0,4 mmol p-TosOH	HPLC: kein 18
20	siehe 18	siehe 18, zusätzlich 1 mmol p-TosOH	HPLC: kein 18
21	6mmol 9 1mmol 52	lyophilisiert mit 1 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N, 30min, 100°C, HV	HPLC: kein 18
22	siehe 21	lyophilisiert mit 2ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N, 30min, 100°C, HV	HPLC: kein 18

### 3.3. Reaktion von Aminomalonsäuredinitril mit Harnstoff



Nr.	Edukte	Bedingungen/Aufarbeitung	Analytik/Produkte
1	20mmol 9 3mmol 2	In Schmelze von 9 (150°C) wird 2 in DEE zugetropft, 30min rühren, abkühlen, dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	HPLC: kein 17
2	17mmol 9 15mmol 2	Schmelze 25-30°C, 1h, HV, dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	HPLC: kein 17
3	20mmol 9 6mmol 2	Schmelze 70°C, 20min, HV, dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	HPLC: kein 17
4	2mmol 9 1mmol 2	5ml MeOH, 60°C, 7d p-TosOH	HPLC: kein 17
5	24mmol 9 6mmol 2	12ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N, 100°C 30min	HPLC: kein 17

### 3.4. Hydrolyse von Tetraaminopyrimidin, basisch katalysiert



100mg Tetraaminopyrimidinsulfat **15S** (0,420mmol) wurden in einer abschmelzbaren 5ml-Ampulle mit 5ml NaOH 2N versetzt, mit N<sub>2</sub> (l) gekühlt und im noch flüssigen Zustand vorsichtig am HV entgast. Nach 5min wurde eingefroren und am HV abgeschmolzen. Die Ampulle wurde 480h bei 125°C im Ölbad gehalten, dann abkühlen gelassen, geöffnet und schnell in 200 ml Wasser mit 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz. gegossen. Die wässrige Lösung wurde siedend von Kieselsäure abfiltriert (Glasfritte, D4) und nach Abkühlen auf genau 1l ergänzt. Der HPL-chromatographische<sup>1</sup> Vergleich mit Lösungen authentischer Proben ergab einen Gehalt von 0,4mg (0,002mmol, 0,5%) Diaminouracilhemisulfat **18S** (t<sub>R</sub> = 5.9min), sowie 1,3mg (0,005mmol, 1,3%) 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat **17S** (t<sub>R</sub> = 9.6min), sowie ca. 1,1mg (ca. 0,004mmol, ca. 1%<sup>2</sup>) 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat **16S** (t<sub>R</sub> = 8.0min). Schliesslich enthielt die Lösung noch 95mg (0,399mmol, 95%) Tetraaminopyrimidinsulfat **15S** (t<sub>R</sub> = 11.5min).

Zur genauen Charakterisierung der Produkte zusätzlich zur Retentionszeit wurden analoge Ansätze nach Öffnen der Ampulle zu 4.5ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N mit 1ml Perfluorbuttersäure gegossen. Die Lösung wurde zum Sieden erhitzt,

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel) 250•4.6mm, analytisch, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser; Laufmittel B: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser/Acetonitril 1:9; t = 0min: 0% B bis t = 15min: 30% B

<sup>2</sup>Die HPLC-Analyse davon war ungenau, weil zwei - wahrscheinlich tautomere - Formen in wechselndem Verhältnis im Chromatogramm auftraten

von der Kieselsäure abfiltriert (Glasfritte, D4) und durch einen HPLC-Spritzenfilter filtriert. Die gelösten Aminopyrimidine wurden nun HPL-chromatographisch aufgetrennt<sup>1</sup>. Die einzelnen Fraktionen stimmten in folgenden analytischen Daten mit authentischen Produkten überein:

**1.eluierte Fraktion: mit Diaminouracilhemisulfat 18S**



$t_R$             10.5min

DC             $R_f$  0.26, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: rot, dann braun

UV            Perfluorbuttersäure 0.1% in  $\text{H}_2\text{O}$   
 $\lambda_{\max}$ : 259nm

**2.eluierte Fraktion: mit 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat 16S**



$t_R$             12.2min

DC             $R_f$  0.23, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: violett, dann gelb

UV            Perfluorbuttersäure 0.1% in  $\text{H}_2\text{O}$   
 $\lambda_{\max}$ : 264nm und 210nm

**3.eluierte Fraktion: mit 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat 17S**



$t_R$             13.5min

DC             $R_f$  0.30, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: gelb

---

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel), 250•21mm, präparativ, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser, Laufmittel B: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser/Acetonitril 1:9; t = 0min: 0% B bis t = 20min: 40% B

UV Perfluorbuttersäure 0.1% in H<sub>2</sub>O  
 $\lambda_{\text{max}}$ : 281nm und 204nm

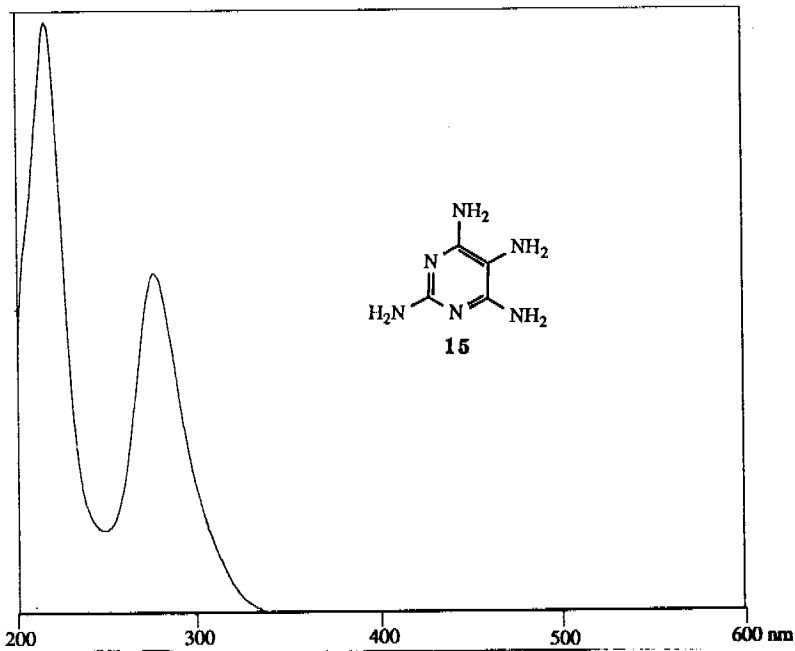
**4.eluierte Fraktion: mit 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidinsulfat 15S**

C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>6</sub>•H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 238.25

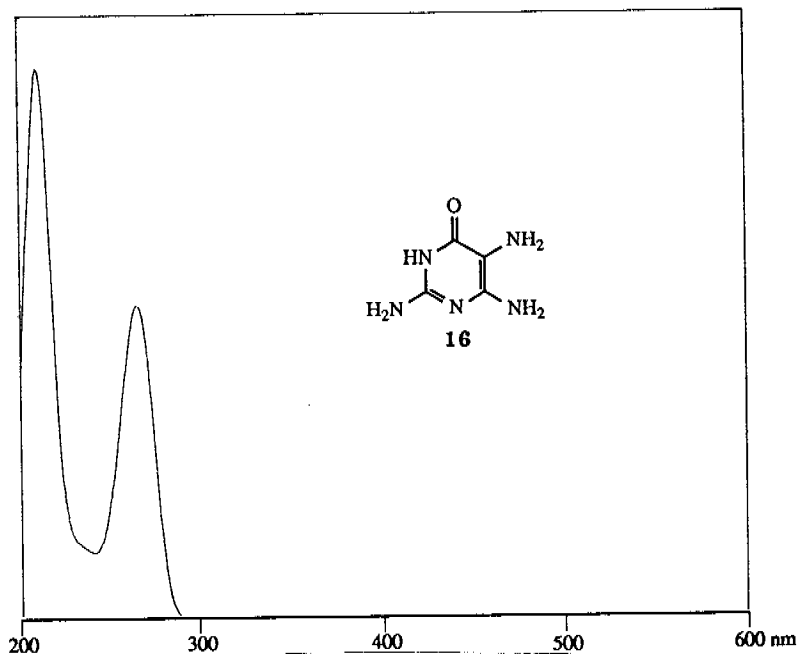
t<sub>R</sub> 16.8min

DC R<sub>f</sub> 0.37, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: gelb

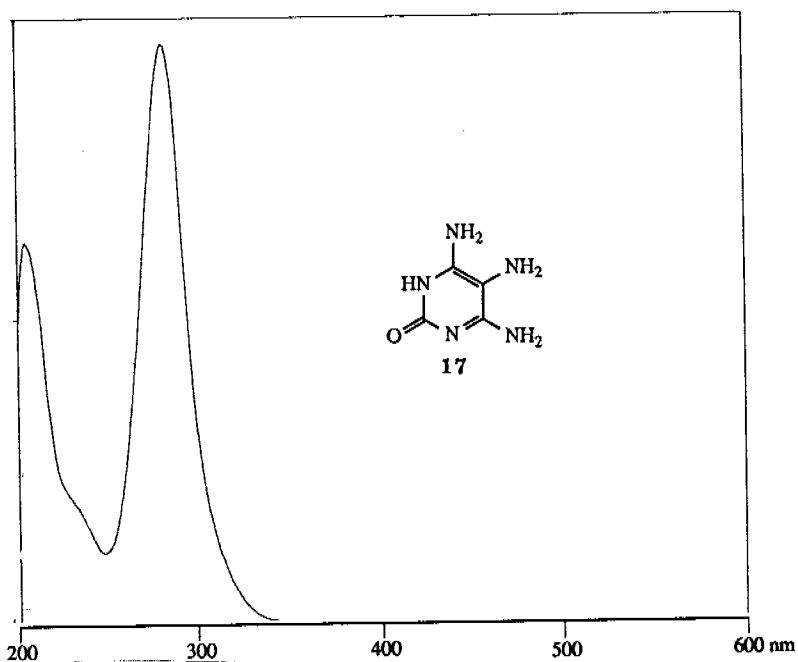
UV Perfluorbuttersäure 0.1% in H<sub>2</sub>O  
 $\lambda_{\text{max}}$ : 276nm und 216nm



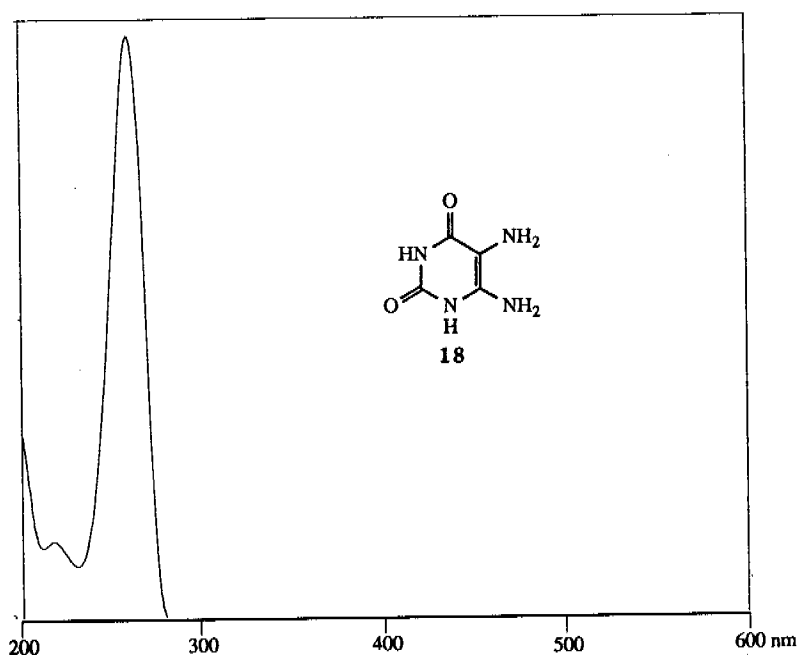
UV-Spektrum von Tetraaminopyrimidin **15** aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C, aufgenommen in wässriger 0.1%iger Perfluorbuttersäure



UV-Spektrum von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon **16** aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C, aufgenommen in wässriger 0.1%iger Perfluorbuttersäure



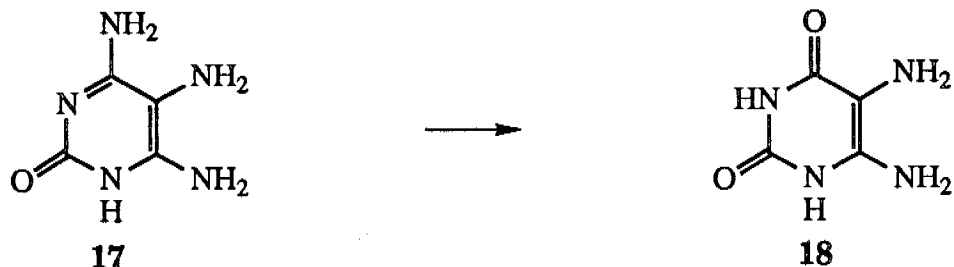
UV-Spektrum von 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon **17** aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C, aufgenommen in wässriger 0.1%-iger Perfluorbuttersäure



UV-Spektrum von 5,6-Diaminouracil **18** aus dem Hydrolyseversuch von Tetraaminopyrimidin **15** in Natronlauge 2N bei 125°C, aufgenommen in wässriger 0.1%-iger Perfluorbuttersäure



### 3.5. Hydrolyse von 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinon, basisch katalysiert



100mg 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat **17S** (0,418mmol) wurden in einer abschmelzbaren 5ml-Ampulle mit 5ml NaOH 2N versetzt, mit N<sub>2</sub> (l) gekühlt und im noch flüssigen Zustand vorsichtig am HV entgast. Nach 5min wurde eingefroren und am HV abgeschmolzen. Die Ampulle wurde 160h bei 125°C im Ölbad gehalten, dann abkühlen gelassen, geöffnet und schnell in 200ml Wasser mit 0,5ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz. gegossen. Die wässrige Lösung wurde siedend von Kieselsäure abfiltriert (Glasfritte, D4) und nach Abkühlen auf genau 1l ergänzt. Die gelbliche Lösung wurde HPL-chromatographisch<sup>1</sup> mit Eichlösungen verglichen. Sie enthielt 14,4mg (0,075mmol, 18%) Diaminouracilhemisulfat **18S** (t<sub>R</sub> = 5.7min) und 46mg (0,19mmol, 46%) 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat **17S** (t<sub>R</sub> = 9.9min).

Zur genauen Charakterisierung der Produkte zusätzlich zur Retentionszeit wurden analoge Ansätze nach Öffnen der Ampulle zu 4.5ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N mit 1ml Perfluorbuttersäure gegossen. Die Lösung wurde zum Sieden erhitzt, von der Kieselsäure abfiltriert (Glasfritte D4) und durch einen HPLC-Spritzenfilter filtriert. Die gelösten Aminopyrimidine wurden nun HPL-chroma-

---

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel) 250•4.6mm, analytisch, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser, Laufmittel B: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser/Acetonitril 1:9; t = 0min: 0% B bis t = 15min: 30% B

tographisch aufgetrennt<sup>1</sup>. Die einzelnen Fraktionen stimmten in folgenden analytischen Daten mit authentischen Produkten überein:

**1.eluierte Fraktion: mit Diaminouracilhemisulfat 18S**

$C_4H_6N_4O_2 \cdot (H_2SO_4)_{1/2}$  191.16

$t_R$  10.4min

DC  $R_f$  0.26, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: rot, dann braun

UV Perfluorbuttersäure 0.1% in  $H_2O$   
 $\lambda_{max}$ : 259nm

**2.eluierte Fraktion: mit 4,5,6-Triamino-2-pyrimidinonsulfat 17S**

$C_4H_7N_5O \cdot H_2SO_4$  239.23

$t_R$  13.3min

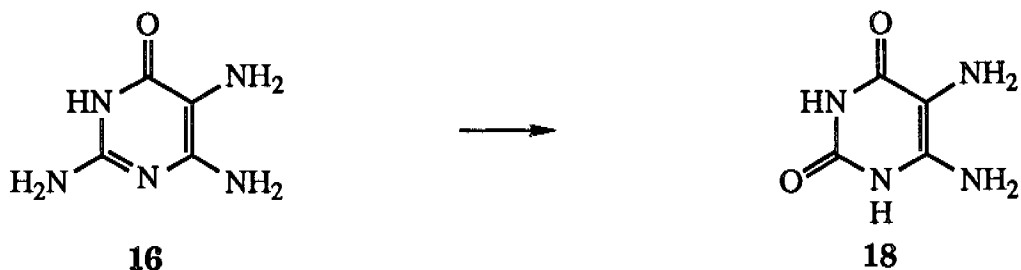
DC  $R_f$  0.30, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: gelb

UV Perfluorbuttersäure 0.1% in  $H_2O$   
 $\lambda_{max}$ : 282nm und 203nm

---

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel), 250•21mm, präparativ, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser, Laufmittel B: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser/Acetonitril 1:9; t = 0min: 0% B bis t = 20min: 40% B

### 3.6. Hydrolyse von 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinon, basisch katalysiert



100mg 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat **16S** (0,389mmol) wurden in einer abschmelzbaren 5ml-Ampulle mit 5ml NaOH 2N versetzt, mit N<sub>2</sub> (l) gekühlt und im noch flüssigen Zustand vorsichtig am HV entgast. Nach 5min wurde eingefroren und am HV abgeschmolzen. Die Ampulle wurde 160h bei 125°C im Ölbad gehalten, dann abkühlen gelassen, geöffnet und schnell in 200ml Wasser mit 0,5ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz. gegossen. Die wässrige Lösung wurde siedend von Kieselsäure abfiltriert (Glasfritte, D4) und nach Abkühlen auf genau 1l ergänzt. Der HPL-chromatographische<sup>1</sup> Vergleich mit Lösungen authentischer Produkte ergab einen Gehalt von 5,2mg (0,027mmol, 7%) Diaminouracilhemisulfat **18S** (t<sub>R</sub> = 5.9min) und noch 33mg (0,129mmol, 33%<sup>2</sup>) 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat **16S** (t<sub>R</sub> = 8.2min).

Zur genauen Charakterisierung der Produkte zusätzlich zur Retentionszeit wurden analoge Ansätze nach Öffnen der Ampulle zu 4.5ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N mit 1ml Perfluorbuttersäure gegossen. Die Lösung wurde zum Sieden erhitzt, von der Kieselsäure abfiltriert (Glasfritte, D4) und durch einen HPLC-Spritzenfilter filtriert. Die gelösten Aminopyrimidine wurden nun HPL-chroma-

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel) 250•4.6mm, analytisch, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser, Laufmittel B: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser/Acetonitril 1:9; t = 0min: 0% B bis t = 15min: 30% B

<sup>2</sup>Die HPLC-Analyse davon ist ungenau, weil zwei - wahrscheinlich tautomere - Formen in wechselndem Verhältnis im Chromatogramm auftreten

tographisch aufgetrennt<sup>1</sup>. Die einzelnen Fraktionen stimmten in folgenden analytischen Daten mit authentischen Produkten überein:

**1.eluierte Fraktion: mit Diaminouracilhemisulfat 18S**



$t_R$             10.5min

DC             $R_f$  0.26, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: rot, dann braun

UV            Perfluorbuttersäure 0.1% in H<sub>2</sub>O  
 $\lambda_{\max}$ : 259nm

**2.eluierte Fraktion: mit 2,5,6-Triamino-4-pyrimidinonsulfathydrat 16S**



$t_R$             12.5min

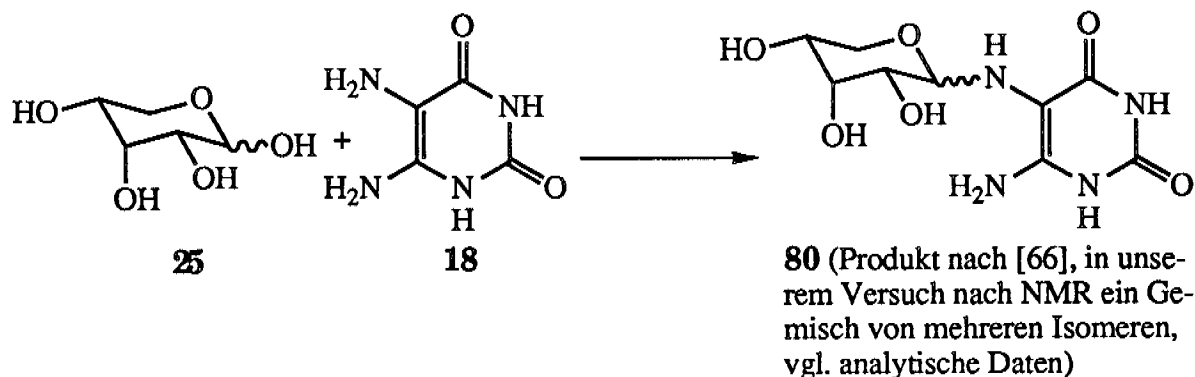
DC             $R_f$  0.23, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: violett, dann gelb

UV            Perfluorbuttersäure 0.1% in H<sub>2</sub>O  
 $\lambda_{\max}$ : 264nm und 215nm

---

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel), 250•21mm, präparativ, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser, Laufmittel B: 0.1% Perfluorbuttersäure in Wasser/Acetonitril 1:9; t = 0min: 0% B bis t = 20min: 40% B

### 3.7. Reaktion von Diaminouracil mit Ribose bei pH 8



1g (5.23mmol) Diaminouracilhemisulfat **18S** wurden in 75ml auf 100°C erhitztem und entgastem Wasser aufgeschlämmt. 54ml entgaste Natronlauge 0.1M wurden zugegeben, bis ca. pH 8 erreicht war und dann 2.5g (16.7mmol) Ribose **25** zugefügt. Es entstand eine leicht trübe, gelbliche Lösung, die wieder vorsichtig am Hausvakuum entgast wurde. Sie wurde über eine Glasfritte abfiltriert, wobei wenig Diaminouracil **18** (nach  $^1\text{H-NMR}$ ) zurückgehalten wurde. Die erhaltene klare gelbe Lösung wurde bei 25°C auf ca. 10ml eingengt und dann 30min bei 80°C gehalten. Nach Abkühlen auf RT wurde die Lösung 14h bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt, wobei ein gelber amorpher Festkörper ausfiel, der über einer Glasfritte gesammelt und mit Eiswasser und Methanol gewaschen wurde. Nach 24h bei RT am HV erhielt man 367mg (26%) von einem feinen, blass gelben Pulver, das durch die analytischen Daten als Isomerengemisch erkannt wurde.

Analytische Daten dieses Isomerengemisches:

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6$  274.24

DC            Zersetzung zu **18** und **25** in wässrigen Systemen mit langen Laufzeiten

$^1\text{H-NMR}$     200 MHz,  $d_5$ -DMSO  
 2.50 ( $d_5$ -DMSO), 3.1 - 6.0 Signalhaufen (Zuckerprotonen), 3.37

(H<sub>2</sub>O), 6.72 (breit, Aminoproton?), 9.11 (d, J = 3Hz, Iminproton?)  
10.3 - 10.5 (Signalhaufen, Amidprotonen im Uracilring)

<sup>13</sup>C-NMR 75 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO

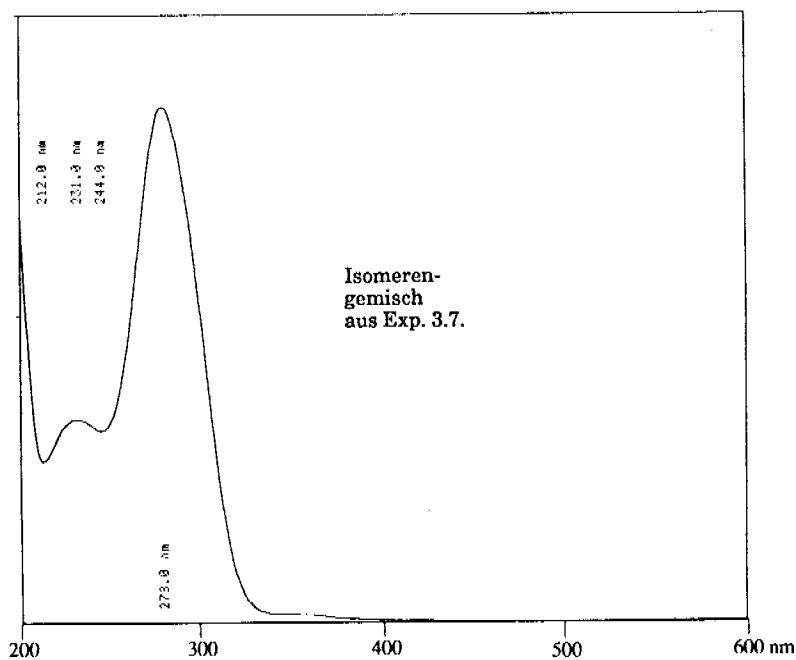
Die 9 wichtigsten Signale (Hauptisomer) ausser denen von d<sub>6</sub>-DMSO: 164.4, 153.2, 149.4, 92.6, 87.7, 70.1, 69.6, 67.0, 64.2

UV H<sub>2</sub>O

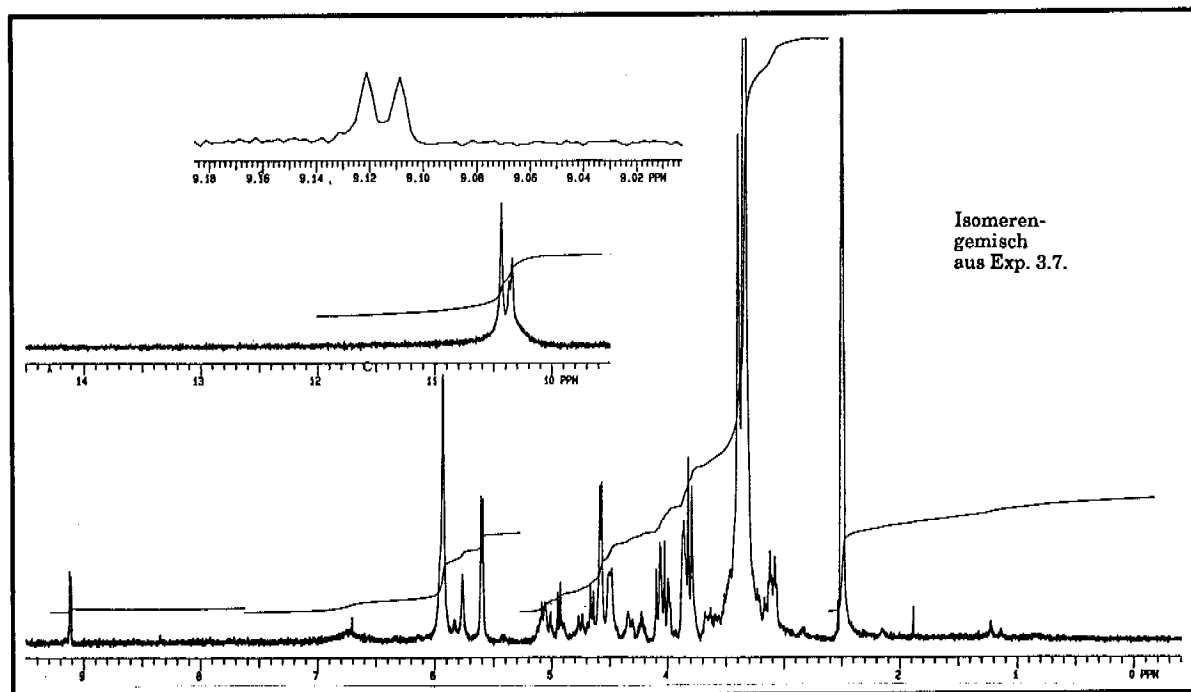
λ<sub>max</sub> in nm: 278

IR KBr

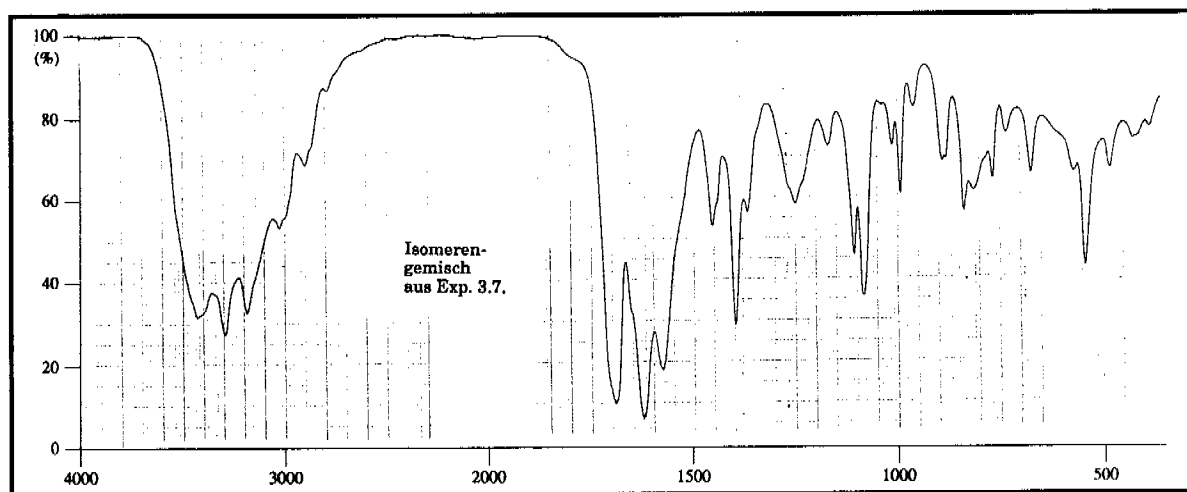
3430 sh m, 3295 m, 3185 m, 3025 w, 2900 w, 2790 w, 1695 vs,  
1625 vs, 1580 vs, 1455 sh m, 1398 s, 1368 w, 1250 sh m, 1170 w,  
1108 m, 1085 m, 1012 w, 992 w, 910 w, 890 w, 882 w, 837 w, 812 w,  
768 w, 672 w, 570 w, 542 m, 481 w, 425 sh w, 380 w



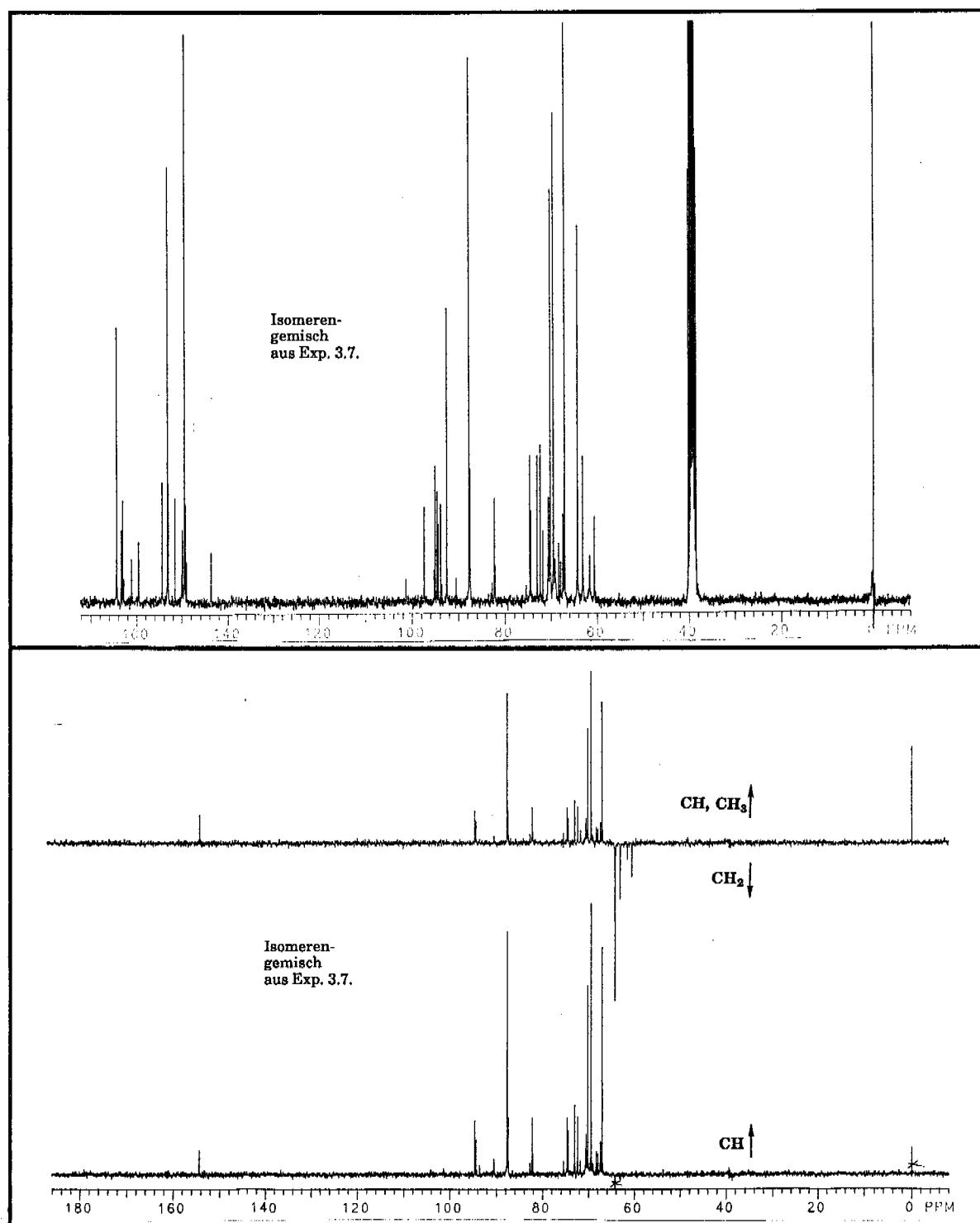
UV-Spektrum des Isomergemisches aus Diaminouracil und Ribose bei pH8 (Experiment 3.7.), aufgenommen in H<sub>2</sub>O



200Mhz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Isomerengemisches aus Diaminouracil und Ribose bei pH8 (Experiment 3.7.), aufgenommen in  $\text{d}_6$ -DMSO



IR-Spektrum des Isomerengemisches aus Diaminouracil und Ribose bei pH8 (Experiment 3.7.), aufgenommen in KBr

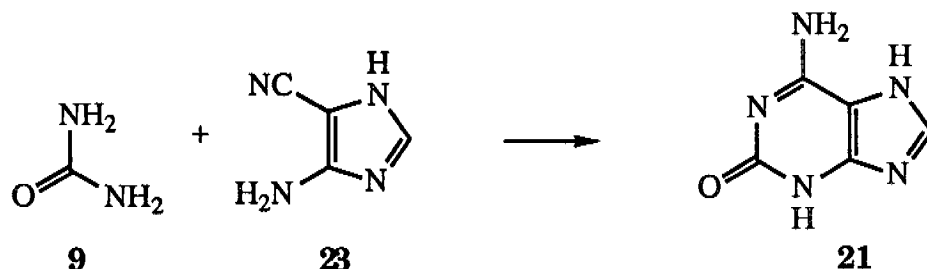


75MHz-<sup>13</sup>C-Spektrum des Isomerengemisches aus Diaminouracil und Ribose bei pH8 (Experiment 3.7.), aufgenommen in d<sub>6</sub>-DMSO



## 4. PURINE

### 4.1. Isoguanin



2.4g (40mmol) kristalliner Harnstoff **9** wurden im Mörser pulverisiert und mit 216mg (2mmol) 5-Aminoimidazol-4-carbonitril **23** innig verrieben. Die weisse Pulvermischung wurde mit Magnetrührer im offenen 10ml-Birnkolben bei ca. 145°C im Ölbad geschmolzen und bei 140°C 3h weitergerührt. Die unterdessen leicht bräunliche Schmelze war nun beinahe erstarrt und enthielt gemäss DC (Kieselgel, Wasser/n-Butanol/Essigsäure 2:4:1, Detektion UV) kein Edukt **23** mehr. Die Schmelze wurde abkühlen gelassen und in ca. 10ml Wasser aufgeschlämmt. Der unlösliche Anteil wurde über einer Glasfritte (D3) gesammelt und mit Wasser gründlich gewaschen. Das verbleibende, leicht bräunliche Pulver wurde nun in der Mindestmenge NaOH 0.5N gelöst, bei RT 30min mit Aktivkohle gerührt, über Celite filtriert und schliesslich in eine essigsäuregesättigte Atmosphäre gestellt. Nach einer Woche bei RT wurde das ausgefallene, gelbliche Pulver über einer Glasfritte (D3) abfiltriert, getrocknet (HV/RT/96h) und ergab so 176mg (1.16mmol, 58%) analytisch reines Isoguanin **21**. Kristallisieren aus ca. 60ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N zwischen Siedepunkt und RT ergab nach Trocknen (HV/RT/96h) 254mg gelbliche Nadeln von Isoguaninhemisulfat **21S** (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O • (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)<sub>1/2</sub>)

Analytische Daten von Isoguanin **21**:

C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O 151.15

DC R<sub>f</sub> 0.23, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV

$^1\text{H-NMR}$  200 MHz, ca. 10% NaOD in  $\text{D}_2\text{O}$   
4.95 (HOD), 7.30 (C(8)H)

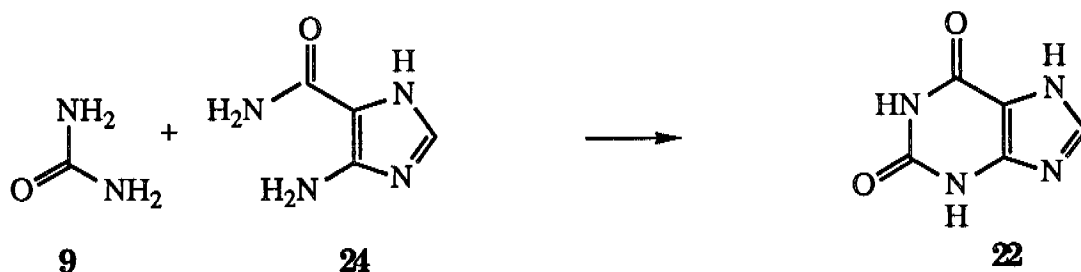
$^{13}\text{C-NMR}$  50 MHz, ca. 10% NaOD in  $\text{D}_2\text{O}$   
116.2 (C(5)), 153.8 (C(8)), 158.7, 166.6, 169.5 (C(2), C(4) und C(6))

UV NaOH 0.01N  
 $\lambda_{\text{max}}$  in nm: 283 ( $\lg \epsilon = 4.96$ )

$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O} \cdot (\text{H}_2\text{SO}_4)_{1/2}$  **21S** 200.20

IR als Hemisulfatsalz **21S**, KBr  
3153 b, sh, 3000 b, 2899 b, 2795 b, 2746 w, 2649 w, 2105 w,  
1713 vs sh, 1689 vs sh, 1597 s, 1432 s sh, 1329 s sh, 1279 w, 1212 m,  
1201 m, 1167 m, 1131 s, 1113 s, 1079 vs, 990 w, 978 m, 922 w,  
904 w, 839 w, 802 m, 756 w, 729 w, 703 w sh, 671 w, 636 w, 617 w,  
601 w, 566 w, 532 s, 488 w, 445 w, 384 w, 363 w

## 4.2. Xanthin



3.6g (60mmol) kristalliner Harnstoff **9** wurden im Mörser pulverisiert und mit 432.4mg (3mmol) 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid-hydrat **24** innig verrieben. Die weisse Pulvermischung wurde mit Magnetrührer im offenen 10ml-Birnkolben bei ca. 145°C im Ölbad geschmolzen und bei 140°C 3h weitergerührt. Die Schmelze enthielt gemäss DC (Kieselgel, Wasser/n-Butanol/Essigsäure 2:4:1, Detektion UV,  $R_f$  0.34) kein Edukt 5-Aminoimidazol-4-carbonsäureamid-hydrat **24** mehr. Die Schmelze wurde abkühlen gelassen und in ca. 10ml Wasser aufgeschlämmt. Der unlösliche Anteil wurde über einer Glasfritte (D4) gesammelt und mit Wasser gründlich gewaschen. Das verbleibende, leicht gräuliche Pulver wurde nun in der Mindestmenge NaOH 0.5N gelöst und in eine essigsäuregesättigte Atmosphäre gestellt. Nach einer Woche bei RT wurde das ausgefallene, gräuliche Pulver über einer Glasfritte (D3) abfiltriert, getrocknet (HV/RT/96h) und ergab so 213mg (1.4mmol, 47%) analytisch reines Xanthin **22**.

Analytische Daten von Xanthin **22**:

$C_5H_4N_4O_2$  152.11

DC  $R_f$  0.41, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV

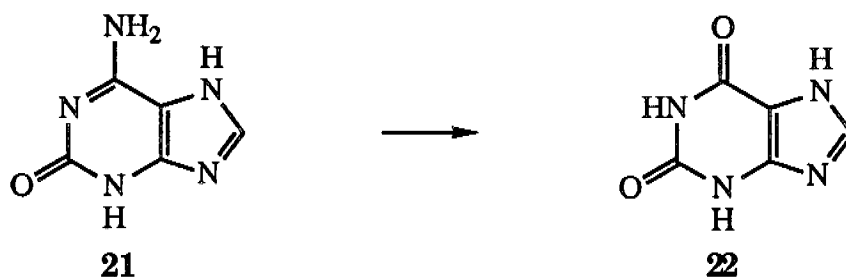
$^1H$ -NMR 200 MHz, ca. 10% NaOD in  $D_2O$   
4.92 (HOD), 7.27 (C(8)H)

$^{13}C$ -NMR 50 MHz, ca. 10% NaOD in  $D_2O$   
118.9 (C(5)), 153.4 (C(8)), 163.7, 165.3, 166.1 (C(2), C(4) und C(6))

UV NaOH 0.01N  
 $\lambda_{\text{max}}$ : 280nm (lg  $\epsilon$  = 4.90)

IR KBr  
3419 b, 3130 s sh, 3003 b sh, 2876 m, 2826 m, 2797 m, 2667 w,  
2065 w, 1701 vs sh, 1569 m, 1458 m sh, 1436 w, 1419 m, 1335 m sh,  
1259 w, 1205 m sh, 1153 w, 1122 w, 1033 w, 958 w, 854 b sh,  
767 w sh, 723 w, 696 w, 635 w, 615 w, 538 m, 499 m, 428 w, 353 w

### 4.3. Xanthin durch Hydrolyse von Isoguanin



231mg Isoguaninhemisulfat **21S** (80% nach UV, Rest H<sub>2</sub>O, 0.92mmol) wurden 20h in HCl 6N am Rückfluss gekocht, am Rotationsverdampfer eingedampft und in ca. 10ml NaOH 4N gelöst. Aus dieser Lösung fiel bei RT in einer essigsäuregesättigten Atmosphäre innert 48h ein feines gelbes Pulver aus, das auf einer Glasfritte (D3) gesammelt und zweimal mit wenig Wasser gewaschen wurde. Nach dem Trocknen (HV/RT/100h) erhielt man so 118mg (78%) Xanthin **22**.

Analytische Daten von Xanthin **22**:

C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 152.11

DC R<sub>f</sub> 0.41, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV

<sup>1</sup>H-NMR 200 MHz, ca. 10% NaOD in D<sub>2</sub>O  
1.32 (s, 0.2 H, CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>), 5.00 (HOD), 6.99 (s, 1H, C(8)H,  
Xanthin), 7.08 (s, 0.1H, C(8)H, wahrscheinlich Isoguanin)

<sup>13</sup>C-NMR 50 MHz, ca. 10% NaOD in D<sub>2</sub>O  
119.0 (C(5)), 151.5 (C(8)), 165.3, 167.9, 169.1 (C(2), C(4) und C(6))

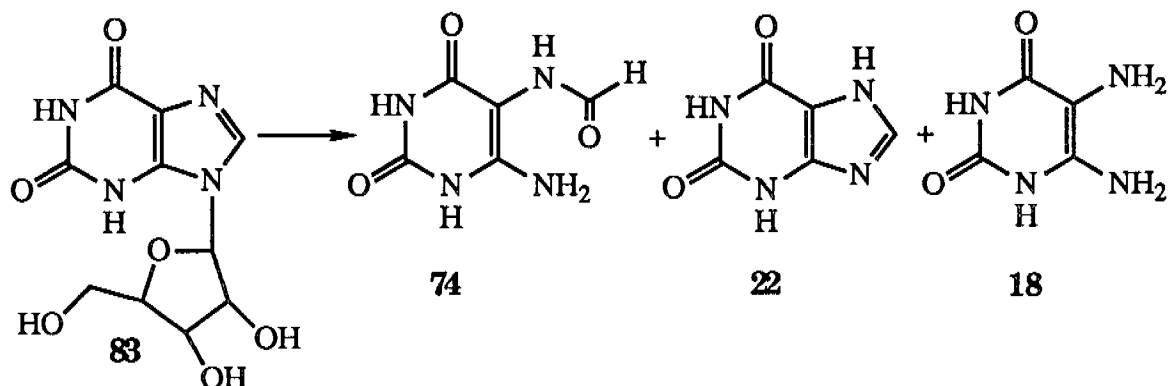
UV NaOH 0.01N  
λ<sub>max</sub> : 281nm (lg ε = 5.09)

IR

KBr

3395 b, 3125 s sh, 3003 b sh, 2874 m, 2794 m, 1699 vs sh, 1569 m,  
1456 m sh, 1419 m, 1335 m sh, 1259 w, 1203 m sh, 1153 w, 1122 w,  
1031 w, 958 w, 853 b sh, 765 w sh, 722 w, 704 w, 636 w, 613 w,  
538 m, 498 m, 426 w

#### 4.4. Hydrolyse von Xanthosin bei pH 10 / 100°C



284.2mg (1mmol) Xanthosin **83** wurden in einer abschmelzbaren 5ml-Ampulle mit 5ml Boraxpufferlösung 0.5N (pH 10.0) versetzt, mit N<sub>2</sub> (l) gekühlt und im noch flüssigen Zustand vorsichtig am HV entgast. Nach 5min wurde eingefroren und am HV abgeschmolzen. Die Ampulle wurde 250h bei 105-110°C im Ölbad gehalten, dann abkühlen gelassen, geöffnet und mit Wasser auf 1l verdünnt. Der HPL-chromatographische<sup>1</sup> Vergleich mit Lösungen authentischer Proben ergab so einen Gehalt von 10.2mg (0.06mmol, 6%) 5-Formylamino-6-aminouracil **74** (t<sub>R</sub> = 3min), 3.8mg (0.02mmol, 2%) Diaminouracil (als Hemisulfat) **18S** (t<sub>R</sub> = 4.1min), 244.4mg (0.86mmol, 86 %) Xanthosin **83** (t<sub>R</sub> = 5min) und schliesslich 15.0mg (0.06mmol, 6%) Xanthin **22** (t<sub>R</sub> = 7.5min).

---

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel), 250•4.6mm, analytisch, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: Natriumphosphat 10mM pH 7.5, Laufmittel B: Laufmittel A/MeOH 7:3; t = 0min: 0% B bis t = 14min: 14% B und bis t = 15min: 100% B

Zur genaueren Charakterisierung der Produkte neben Koinjektion wurde ein gleicher Ansatz nach dem Abkühlen geöffnet, über Glasfritte (D4) und anschliessend durch einen HPLC-Filter filtriert. Die präparative HPL-chromatographische Auftrennung<sup>1</sup> ergab 3 Fraktionen, die neben Koinjektion mit authentischen Produkten durch folgende analytische Daten charakterisiert wurden:

**Die 1.eluierte Fraktion** enthielt 5-Formylamino-6-aminouracil **74**

$C_5H_6N_4O_3$  170.14

DC  $R_f$  0.31, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol 1:2:4),  
Detektion: UV

$t_R$  6.9min

UV Natriumphosphat 10mM pH 7.5  
 $\lambda_{max}$ : 263nm

**Die 2.eluierte Fraktion** enthielt Xanthosin **83**

$C_{10}H_{12}N_4O_6$  284.2

$t_R$  11.5min

DC  $R_f$  0.48, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Anisaldehyd: grün

UV Natriumphosphat 10mM pH 7.5  
 $\lambda_{max}$ : 277nm und 248nm

---

<sup>1</sup> Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel), 250•21mm, präparativ, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: Natriumphosphat 10mM pH 7.5, Laufmittel B: Laufmittel A/MeOH 7:3; t = 0min: 0% B bis t = 14min: 14% B und bis t = 15min: 100% B



**Die 3.eluierte Fraktion enthielt Xanthin 22**

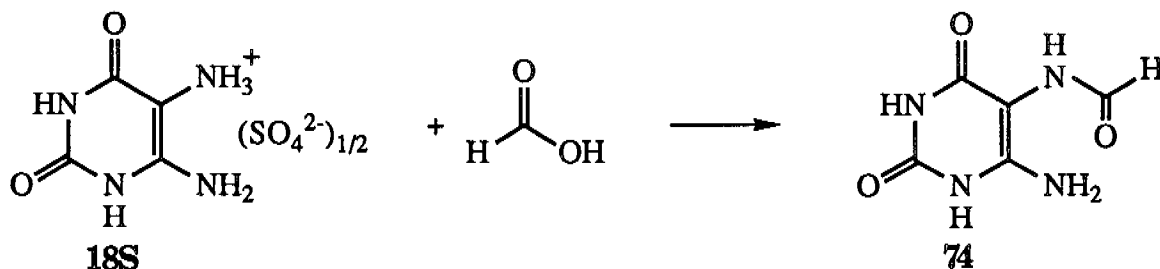
$C_5H_4N_4O_2$  152.11

DC  $R_f$  0.41, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV

$t_R$  14.7min

UV Natriumphosphat 10mM pH 7.5  
 $\lambda_{max}$ : 272nm und 240nm

## 4.5. 5-Formylamino-6-aminouracil



1.91g Diaminouracilhemisulfat (9.8mmol) **18S** wurden mit 1.36g Natriumformiat (20mmol) in 80ml Ameisensäure in einem Rundkolben mit Magnet-rührer gelöst. Die rote, leicht trübe Lösung wurde am Hausvakuum entgast und unter Argon bei RT stehengelassen. Nach ca. 4h wurde die Lösung gelb trübe und nach 24h hatte sich eine grössere Menge Niederschlag abgesetzt. Die Suspension wurde tropfenweise zuerst mit 20ml Ethanol und dann 200ml Diethylether versetzt. Der Niederschlag wurde über einer Glasfritte abfiltriert, mit Diethylether neutral gewaschen und getrocknet (HV/RT/24h). In 200ml siedendem Wasser mit einem Tropfen konzentriertem, wässrigem Ammoniak gelöst, kristallisierte 5-Formylamino-6-aminouracil **74** beim Abkühlen auf RT und dann 4°C in Form von feinen, gelblichen Nadeln. Nach Abfiltrieren, Waschen mit Wasser und Trocknen erhielt man 1.21g (7.1mmol, 73%) **74**.

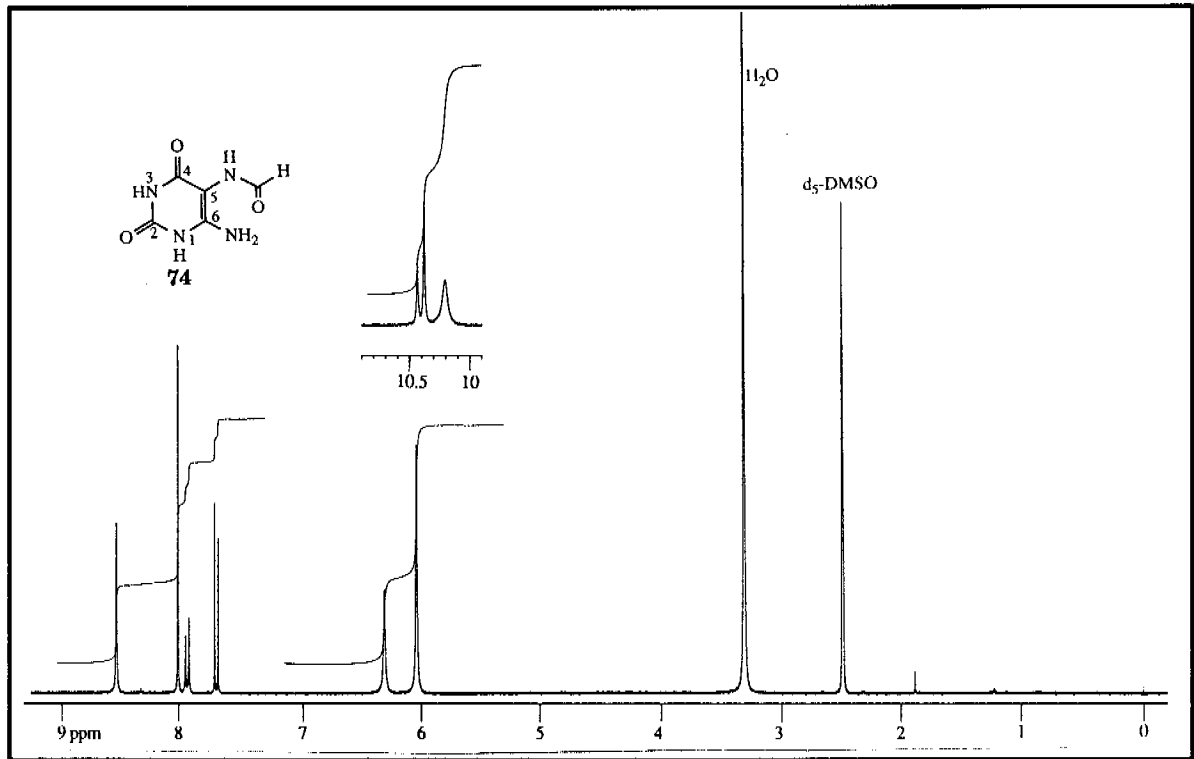
Analytische Daten von 5-Formylamino-6-aminouracil **74**:

$\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$  170.14

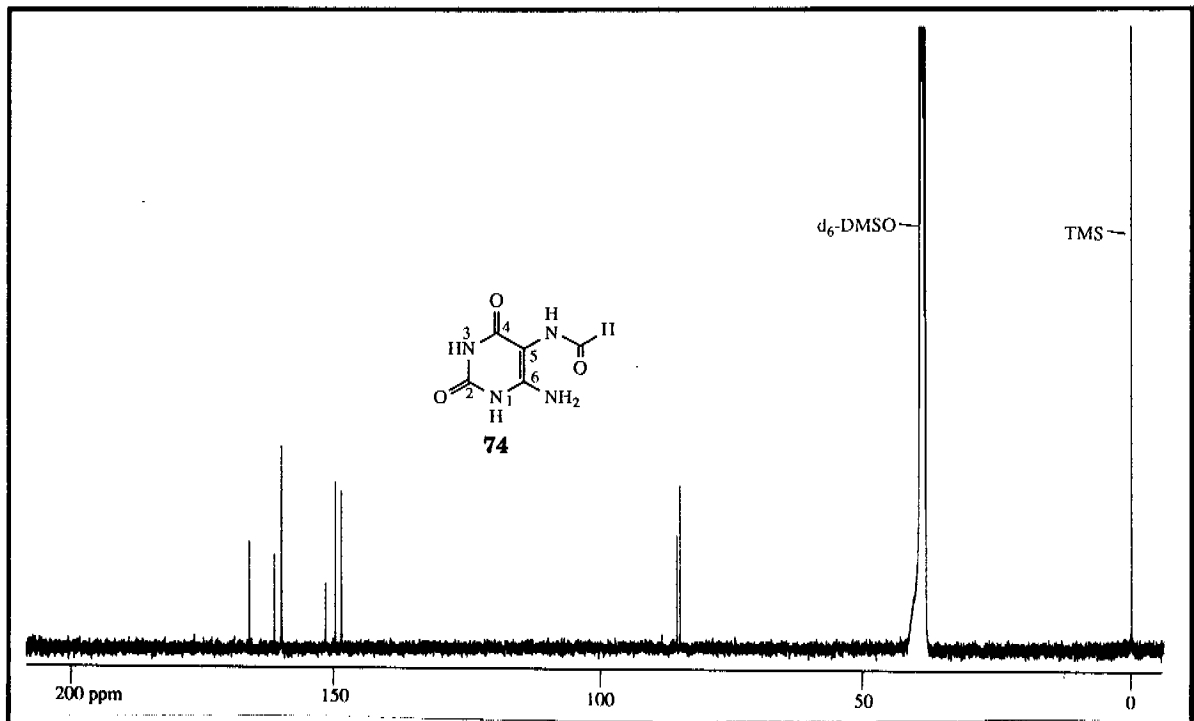
MS EI  
171 (12, M+1), 170 (45, M), 152 (42, M-H<sub>2</sub>O), 142 (100, M-CO) 109 (35), 97 (15), 81 (10), 70 (46), 54 (47) 43(96)

DC R<sub>f</sub> 0.31, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol 1:2:4),  
Detektion: UV

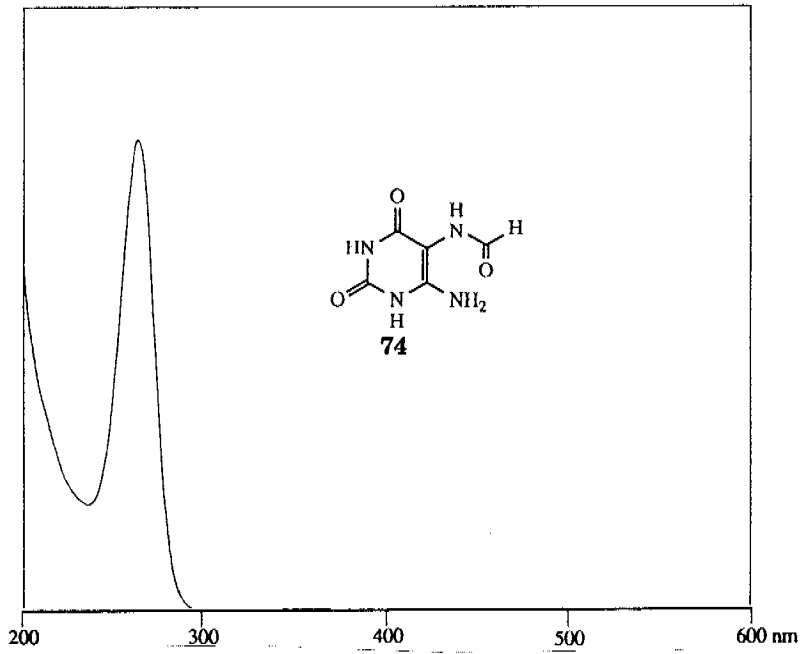
- <sup>1</sup>H-NMR** 400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
2.50 (m, d<sub>5</sub>-DMSO), 3.32 (s, H<sub>2</sub>O), 3.32 (s, H<sub>2</sub>O), 6.05 (s breit, 1.3H, -NH<sub>2</sub> Z-Isomer), 6.31 (s breit, 0.7H, -NH<sub>2</sub> E-Isomer), 7.70 (d, J=11.6Hz, 0.35H NCOH E-Isomer), 7.94 (d, J=11.6Hz, 0.35H, -NHCOH E-Isomer), 8.02 (d, J=1.4Hz, 0.65H, NCOH Z-Isomer), 8.54 ("s" breit, 0.65H, -NHCOH Z-Isomer), 10.21 (s sehr breit, 1H, -NH- im Ring beider Isomere), 10.38 (s breit, 0.65H, -NH- im Ring des Z-Isomeren), 10.43 (s breit, 0.35H, -NH- im Ring des E-Isomeren)
- <sup>13</sup>C-NMR** 100 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
39.5 (hept, d<sub>6</sub>-DMSO), 85.7 (C(5) Z-Isomer), 86.2 (C(5) E-Isomer), 149.6, 149.7, 150.8, 152.7, 161.0, 161.1, 162.4, 167.1 (2x4C der beiden Isomeren)
- UV** Natriumphosphat 10 mM pH 7.0  
 $\lambda_{\max}$ : 263nm (lg  $\epsilon$  = 4.25)
- IR** KBr  
3403 m, 3250 m sh, 3189 m sh, 3071 b, 3018 m, 2777 w, 1808 w, 1750 m, 1717 s, 1671 m, 1635 s sh, 1581 s, 1520 m, 1454 m, 1407 m, 1398 w, 1387 s sh, 1279 m, 1190 w, 1158 w, 1086 w, 1012 w, 881 m, 837 w, 779 w, 762 m sh, 737 w, 708 w, 677 w, 659 w, 620 w, 546 m, 512 w, 474 m, 442 w sh, 400 w, 368 w



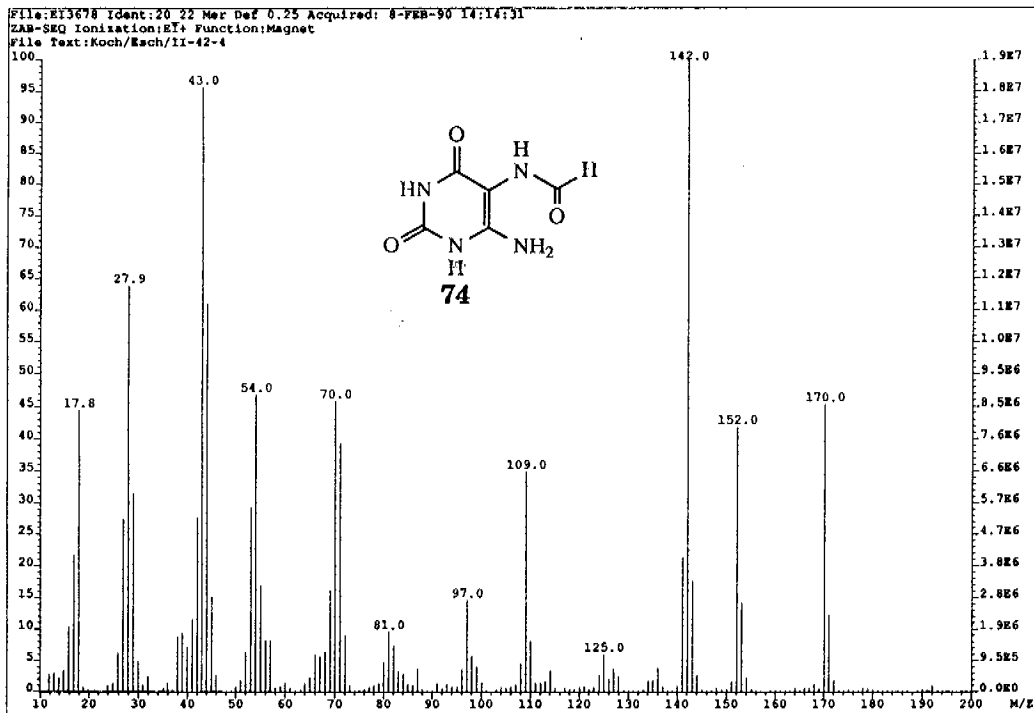
400 MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 6-Amino-5-formylaminouracil 74 in  $d_5\text{-DMSO}$



100 MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von 6-Amino-5-formylaminouracil 74 in  $d_6\text{-DMSO}$

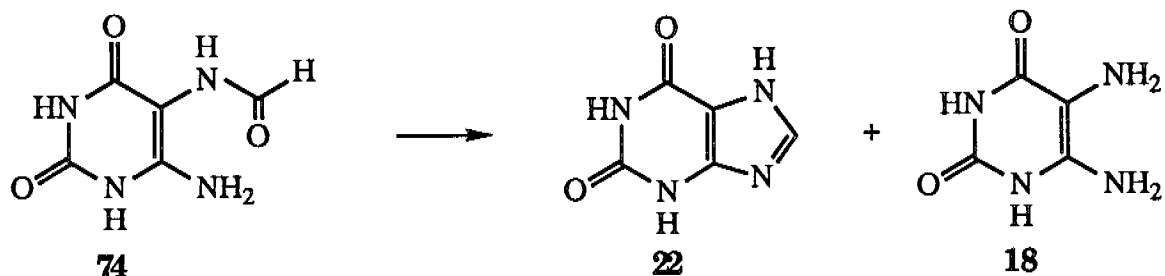


UV-Spektrum von 6-Amino-5-formylaminouracil 74 bei pH 7



EI-MS-Spektrum von 6-Amino-5-formylaminouracil 74

#### 4.6. Reaktion von 5-Formylamino-6-aminouracil bei pH 10 / 100°C



85mg (0.5mmol) 5-Formylamino-6-aminouracil **74** wurden in einer abschmelzbaren 5 ml-Ampulle mit 5ml Boraxpufferlösung 0.5N (pH 10.0) versetzt, mit N<sub>2</sub> (l) gekühlt und im noch flüssigen Zustand vorsichtig am HV entgast. Nach 5min wurde eingefroren und am HV abgeschmolzen. Die Ampulle wurde 60h bei 105°C im Ölbad gehalten, dann abkühlen gelassen, geöffnet und mit Wasser auf 1l verdünnt. Der HPL-chromatographische<sup>1</sup> Vergleich mit Lösungen authentischer Proben ergab einen Gehalt von 24.9mg (0.15 mmol, 30%) 5-Formylamino-6-aminouracil **74** (t<sub>R</sub> = 6.9min), 23.9mg (0.13mmol, 25%) Diaminouracil (als Hemisulfat) **18S** (t<sub>R</sub> = 9.4min) und 16.6mg (0.11mmol, 22%) Xanthin **22** (t<sub>R</sub> = 16.3min).

Zur genaueren Charakterisierung der Produkte neben Koinjektion wurde ein gleicher Ansatz nach dem Kühlen geöffnet, bis ca. pH 3 angesäuert, über Glasfritte (D4) und anschliessend durch einen HPLC-Filter filtriert. Die präparative HPL-chromatographische Auftrennung (wie oben<sup>1</sup>) ergab 3 Fraktionen, die neben Koinjektion mit authentischen Produkten durch folgende analytische Daten charakterisiert wurden:

<sup>1</sup>Säule: Nucleosil 100-7 C-18 (Marcherey-Nagel), 250•21mm, präparativ, Detektion UV 265nm; Laufmittel A: Natriumphosphat 10mM pH 7.0; Laufmittel B: Laufmittel A/MeOH 7:3 ; t = 0min: 0% B bis t = 9min: 9% B und bis t = 10min: 100% B)

**Die 1.eluierte Fraktion enthielt 5-Formylamino-6-aminouracil 74**

$C_5H_6N_4O_3$  170.14

DC  $R_f$  0.31, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol 1:2:4),  
Detektion: UV

$t_R$  6.9min

UV Natriumphosphat 10mM pH 7.0  
 $\lambda_{max}$ : 263nm

**Die 2.eluierte Fraktion enthielt Diaminouracil 18 als Hemisulfat 18S**

$C_4H_6N_4O_2 \cdot (H_2SO_4)_{1/2}$  191.16

$t_R$  9.4min

DC  $R_f$  0.26, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV, Ninhydrin: rot, dann braun

UV Natriumphosphat 10mM pH 7.0  
 $\lambda_{max}$ : 281nm

**Die 3.eluierte Fraktion enthielt Xanthin 22**

$C_5H_4N_4O_2$  152.11

DC  $R_f$  0.41, Kieselgel (Essigsäure/Wasser/n-Butanol, 1:2:4),  
Detektion: UV

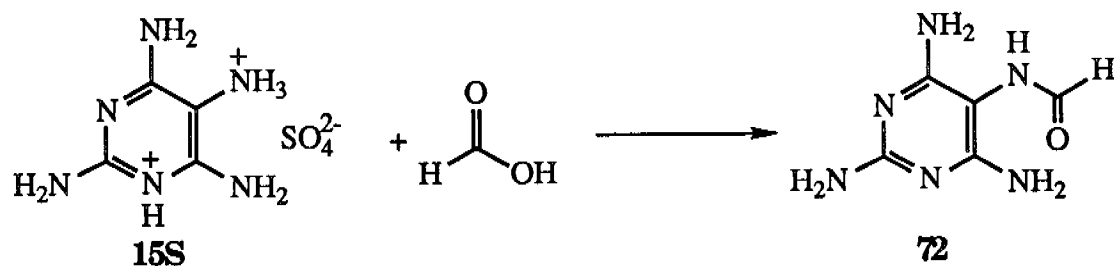
$t_R$  16.3min

UV Natriumphosphat 10mM pH 7.0  
 $\lambda_{max}$ : 269nm und 205nm

#### 4.7. 5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin

(von St. Pitsch [93] synthetisiert, nach Traube [62] und Trinks [14];

Röntgenstrukturanalyse von Dr. B. Schweizer ETH Zürich)



Ansatz analog zum Trinks'schen ([14], S.178): 2.56g (10mmol) Tetraaminopyrimidinsulfat-hydrat **15S**, 0.7g Natriumformiat und 30ml Ameisensäure wurden 2h am Rückfluss erhitzt und danach das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde in heissem Wasser gelöst und durch Zugabe von wässrigem Ammoniak auf pH 9 gestellt. Im Kühlschrank kristallisierten 1.5g (HV/RT) blassgelber Nadeln von 5-Formylamino-2,4,6-Triaminopyrimidin **72**.

Um einen für die Röntgenkristallstrukturanalyse genügenden Kristall zu erhalten, löste Pitsch diese Nadeln nochmals im Minimum von kochendem Wasser. Aus dieser Lösung gab es beim Abkühlen auf RT keine spontane Kristallisation. Dazu wurde mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt und bei gegenüber RT leicht erhöhter Temperatur und offenem Gefäss langsam davon verdunsten gelassen. Nach etwa einem Monat waren meist zu grosse, aber auch für die Röntgenkristallstrukturanalyse geeignete Kristalle entstanden.

Analytische Daten von 5-Formylamino-2,4,6-Triaminopyrimidin **72**:

$\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_6\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$  168.16 (186.17)

$^1\text{H-NMR}$  300 MHz,  $d_6$ -DMSO

2.50 (m,  $d_5$ -DMSO), 3.33 (s,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 3.32 (s,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 5.38 (s breit, 1.5H, C(2)- $\text{NH}_2$ , Z-Isomer), 5.45 (s breit, 3H, C(4)- $\text{NH}_2$  und C(6)- $\text{NH}_2$ , Z-Isomer), 5.48 (s breit, 0.5H, C(2)- $\text{NH}_2$ , E-Isomer), 5.62 (s breit,

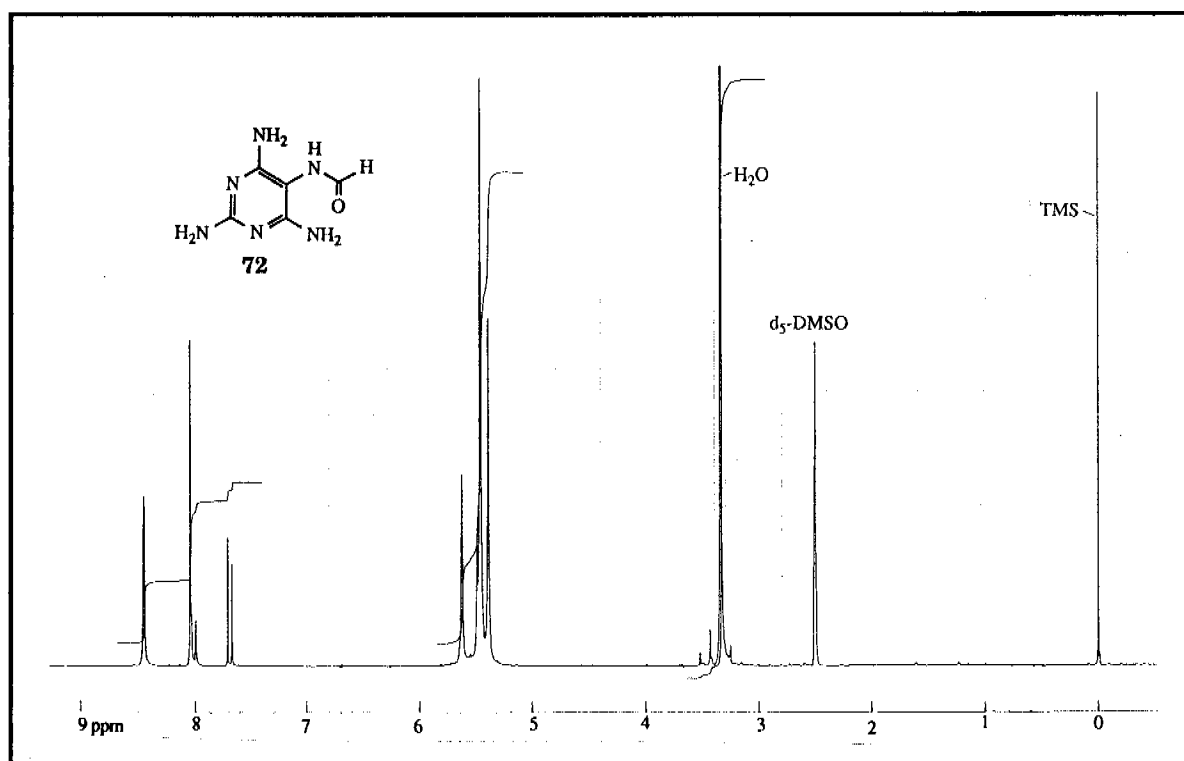


$^1\text{H}$ , C(4)- $\text{NH}_2$  und C(6)- $\text{NH}_2$ , E-Isomer), 7.68 (d,  $J=11.7\text{Hz}$ , 0.25H NCOH, E-Isomer), 8.00 (d,  $J=12\text{Hz}$ , 0.25H,  $\text{NH-CHO}$ , E-Isomer), 8.03 (d,  $J=1.3\text{Hz}$ , 0.75H, NCOH, Z-Isomer), 8.44 ("s" breit, 0.75H,  $-\text{NHCOH}$ , Z-Isomer)

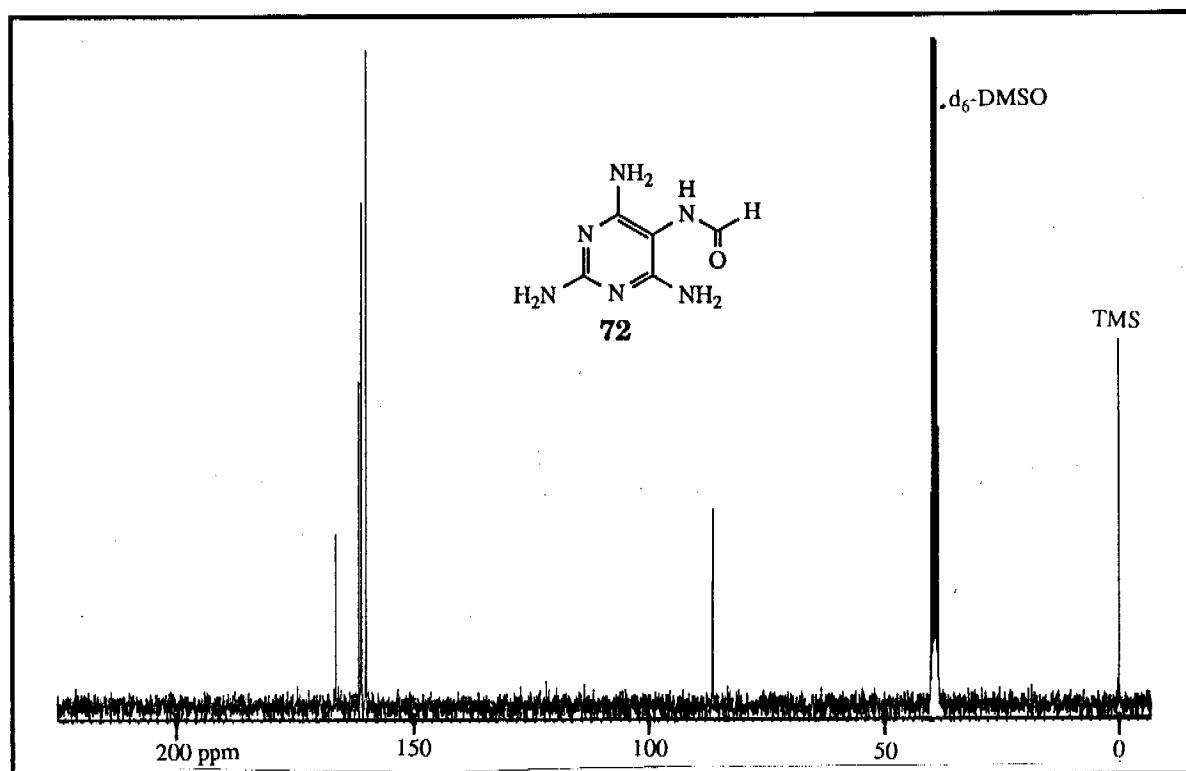
$^{13}\text{C}$ -NMR 75 MHz,  $d_6$ -DMSO  
39.4 (hept,  $d_6$ -DMSO), 86.4 (C(5), Z-Isomer), 86.6 (C(5), E-Isomer), 160.0, 160.9, 161.0, 161.5, 166.4, (2•2 + 2 C der beiden Isomeren)

UV  $\text{H}_2\text{O}$   
 $\lambda_{\text{max}}$ : 266nm ( $\lg \epsilon = 3.99$ )

IR KBr  
3485 s, 3388 s sh, 3342 s, 3263 s, 3220 m, 1672 s, 1650 s, 1623 vs, 1578 s, 1496 s, 1455 s, 1388 s, 1242 m, 1148 m, 1031 w, 1000 m, 879 m, 785 m, 752 w, 570 w, 480 w, 410 w, 378 w



300 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin **72** in  $d_6$ -DMSO



75MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von 5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin **72** in  $d_6$ -DMSO

Die Röntgenstrukturanalyse wurde von Dr. B. Schweizer an der ETH Zürich durchgeführt:

Kristall: 0.25mm x 0.2 mm x 0.45 mm

Raumgruppe:  $P2_12_12_1$  (Orthorhombisch)

Zelle: 4.3370(9), 14.986(5), 12.612(5)  
 $90^\circ, 90^\circ, 90^\circ$

$F_{000}$ : 392

d: 1.521

After anisotropic ref. (H isotropic) weights =  $1/\text{sig}^2(f)$

R=0.031  $R_w$ =0.030

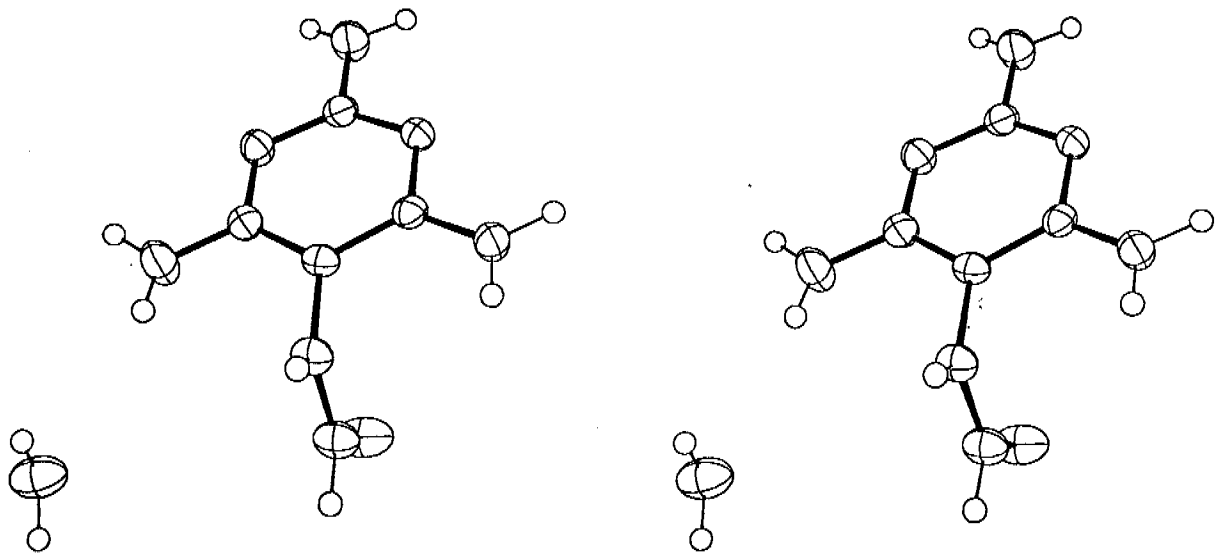
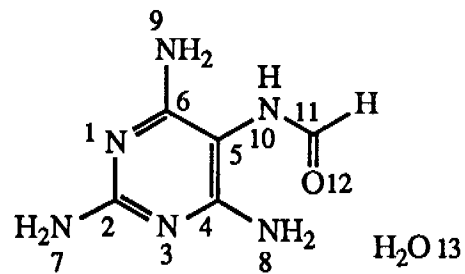


Abbildung der Raumstruktur von 5-Formylamino-2,4,6-triaminopyrimidin **72**, berechnet aus der Röntgenstrukturanalyse (ORTEP-PLOT)

Folgende Atomnumerierung wurde gewählt:



**72**

**Atomkoordinaten**

Atom	x/a	y/b	z/b	U(or U11)	U22	U33	U23	U13
U12	p.p.							
C02	.3295(5)	.5521(1)	.3263(2)	.026(1)	.0240(9)	.028(1)	.0018(8)	-.0012(9)
	0.0000(9)							
C04	.0630(5)	.4413(1)	.2427(2)	.024(1)	.027(1)	.027(1)	-.0009(8)	-.001(1)
	.002(1)							
C05	-.0314(4)	.4093(1)	.3402(2)	.0211(9)	.0216(8)	.030(1)	-.0012(8)	-.001(1)
	0.0000(8)							
C06	.0552(5)	.4558(1)	.4309(2)	.024(1)	.023(1)	.025(1)	.0018(8)	-.0006(9)
	.0035(9)							
C11	-.0760(5)	.2497(1)	.3645(2)	.022(1)	.026(1)	.043(1)	-.001(1)	.001(1)
	-.0031(9)							
N01	.2372(4)	.5296(1)	.4243(1)	.032(1)	.0247(7)	.0240(9)	-.0010(7)	-.0021(8)
	-.0053(8)							
N03	.2505(5)	.5138(1)	.2350(1)	.032(1)	.0310(9)	.0242(9)	-.0005(7)	.0019(8)
	-.0063(9)							
N07	.5167(5)	.6248(1)	.3194(2)	.048(1)	.038(1)	.032(1)	.0016(9)	.000(1)
	-.019(1)							
N08	-.0164(5)	.4019(1)	.1510(2)	.051(1)	.046(1)	.027(1)	-.0061(9)	.001(1)
	-.017(1)							
N09	-.0372(5)	.4316(1)	.5278(1)	.047(1)	.034(1)	.024(1)	.0012(8)	.001(1)
	-.016(1)							
N10	-.2085(4)	.3290(1)	.3489(1)	.0169(8)	.0260(8)	.035(1)	-.0008(7)	-.0013(8)
	-.0029(7)							
O12	.2041(4)	.2375(1)	.3704(1)	.0238(8)	.0318(8)	.077(1)	.0045(9)	-.0021(8)
	.0013(7)							
O13	.0543(5)	.1911(1)	-.0021(2)	.0348(9)	.0378(9)	.076(1)	.008(1)	.005(1)
	-.0009(9)							
H10	-.401(6)	.326(2)	.352(2)	.045(7)				
H11	-.221(5)	.202(1)	.372(2)	.027(5)				
H131	.932(8)	.141(2)	.019(3)	.09(1)				
H132	.905(7)	.233(2)	.001(3)	.08(1)				
H71	.604(6)	.639(2)	.260(2)	.051(8)				
H72	.595(6)	.648(2)	.380(2)	.050(8)				
H81	-.156(6)	.361(2)	.151(2)	.057(9)				
H82	.034(7)	.427(2)	.089(2)	.061(9)				
H91	-.153(6)	.386(2)	.535(2)	.044(8)				
H92	.057(6)	.459(1)	.590(2)	.041(7)				

## Bindungslängen in Å, Bindungs- und Torsionswinkel in Grad

BOND LENGTHS		C02 N03		C02 N07		C04 C05		C04 N03		C04 N03	
C02 N01	1.342( 3)	C02 N03	1.331( 3)	C02 N07	1.361( 3)	C04 C05	1.382( 3)	C04 N03	1.360( 3)	C04 N03	1.360( 3)
C04 N08	1.343( 3)	C05 C06	1.391( 3)	C05 N10	1.431( 2)	C06 N01	1.361( 3)	C06 N09	1.336( 3)	C06 N09	1.336( 3)
C11 N10	1.334( 3)	C11 O12	1.230( 3)	C11 H11	.956( 21)	N07 H71	.866( 27)	N07 H72	.905( 27)	N07 H72	.905( 27)
N08 H81	.861( 27)	N08 H82	.894( 29)	N09 H91	.853( 27)	N09 H92	.975( 23)	N10 H10	.837( 27)	N10 H10	.837( 27)
O13 H131	.957( 34)	O13 H132	.902( 33)	N09 H91	.853( 27)	N09 H92	.975( 23)	N10 H10	.837( 27)	N10 H10	.837( 27)

BOND ANGLES		N01 C02		N03 C02		N07 C02		N07 C02		N07 C02	
N01 C02	N03	127.7( 2)	N01 C02	N07	116.0( 2)	N03 C02	N07	116.3( 2)	C05 C04	N03	121.2( 2)
C05 C04	N08	122.5( 2)	N03 C04	N08	116.3( 2)	C04 C05	C06	118.5( 2)	C04 C05	N10	121.3( 2)
C06 C05	N10	120.2( 2)	C05 C06	N01	120.9( 2)	C05 C06	N09	122.4( 2)	N01 C06	N09	116.8( 2)
N10 C11	O12	124.5( 2)	N10 C11	H11	113.4(13)	O12 C11	H11	122.1(13)	C02 N01	C06	115.7( 2)
C02 N03	C04	115.9( 2)	C02 N07	H71	120.8(18)	C02 N07	H72	118.5(17)	H71 N07	H72	118.1(25)
C04 N08	H81	119.5(18)	C04 N08	H82	120.3(18)	H81 N08	H82	118.1(26)	C06 N09	H91	119.4(18)
C06 N09	H92	119.7(13)	H91 N09	H92	119.9(23)	C05 N10	C11	121.9( 2)	C05 N10	H10	125.7(19)
C11 N10	H10	112.0(19)	H131 O13	H132	97.8(29)	C05 N10	C11	121.9( 2)	C05 N10	H10	125.7(19)

TORSION ANGLES		N07 C02		N01 C06		N01 C02		N03 C04		N03 C04	
N03 C02	N01	4.0( 2)	N07 C02	N01	C06	-178.7( 2)	N01 C02	N03	C04	-2.6( 2)	-2.6( 2)
N07 C02	N03	-179.9( 2)	N01 C02	N07	H71	172.0(24)	N01 C02	N07	H72	10.3(22)	10.3(22)
N03 C02	N07	-10.5(24)	N03 C02	N07	H72	-172.1(22)	N03 C04	C05	C06	3.6( 2)	3.6( 2)
N03 C04	C05	-175.0( 2)	N08 C04	C05	C06	-178.3( 2)	N08 C04	C05	N10	3.1( 2)	3.1( 2)
C05 C04	N03	-1.4( 2)	N08 C04	N03	C02	-179.6( 2)	C05 C04	N08	H81	11.1(24)	11.1(24)
C05 C04	N08	174.4(24)	N03 C04	N08	H81	-170.7(24)	N03 C04	N08	H82	-7.4(24)	-7.4(24)
C04 C05	C06	-2.1( 2)	C04 C05	N09	177.1( 2)	177.1( 2)	N10 C05	C06	N01	176.5( 2)	176.5( 2)
N10 C05	C06	-4.3( 2)	C04 C05	N10	C11	93.0( 2)	C04 C05	N10	H10	-94.4(27)	-94.4(27)
C06 C05	N10	-85.5( 2)	C06 C05	N10	H10	87.1(27)	C05 C06	N01	C02	-1.4( 2)	-1.4( 2)
N09 C06	N01	179.4( 2)	C05 C06	N09	H91	.2(25)	C05 C06	N09	H92	169.0(16)	169.0(16)
N01 C06	N09	179.4(25)	N01 C06	N09	H92	-11.8(16)	O12 C11	N10	C05	-1.7( 2)	-1.7( 2)
O12 C11	N10	-175.2(24)	H11 C11	N10	C05	177.4(15)	H11 C11	N10	H10	3.8(28)	3.8(28)

## Intermolekulare Distanzen in Å/Symmetrieoperationen

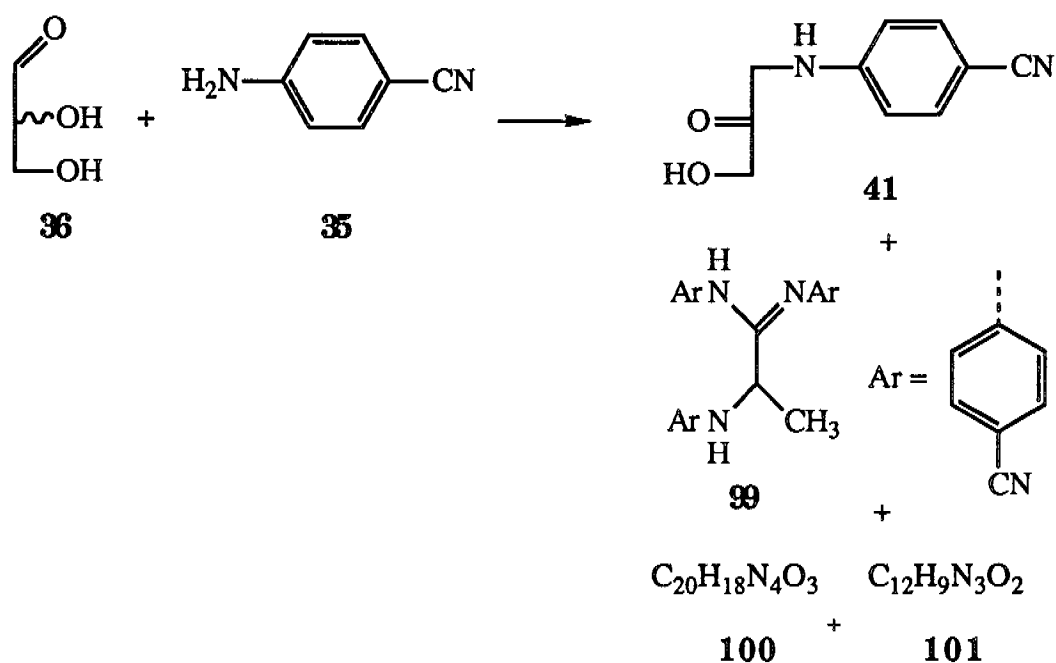
INPUT...TITLE 5-FORMADIDO-2,4,6-TRIAMINOPYRIMIDIN P212121 1990-05-07 14:27:46  
 INPUT...CELL 4.337 14.986 12.612 90.000 90.000 90.000  
 INPUT...SYMM X,Y,Z  
 INPUT...SYMM .5-X , -Y , .5+Z  
 INPUT...SYMM .5+X , .5-Y , -Z  
 INPUT...SYMM -X , .5+Y , .5-Z

RESI,RESJ are the residue numbers for the atoms I and J

N01	O13A	2.90149	.00259	4 0. 0. 0.	.23720	.52960	.42430	-.05430	.69110	.50210	1	2
N03	N09B	3.00740	.00239	2 0. 1.-1.	.25050	.51380	.23500	.53720	.56840	.02780	1	1
N07	O12C	3.16998	.00259	4 1. 0. 0.	.51670	.62480	.31940	.79590	.73750	.12960	1	1
N07	O13D	3.12383	.00298	4 1. 0. 0.	.51670	.62480	.31940	.94570	.69110	.50210	1	2
N08	O13E	2.98924	.00298	3-1. 0. 0.	-.01640	.40190	.15100	-.44570	.30890	.00210	1	2
N09	N03F	3.00740	.00239	2 0. 1. 0.	-.03720	.43160	.52780	.24950	.48620	.73500	1	1
N09	O12G	3.05435	.00226	3-1. 0. 1.	-.03720	.43160	.52780	-.29590	.26250	.62960	1	1
N10	O12H	2.90582	.00214	1-1. 0. 0.	-.20850	.32900	.34890	-.79590	.23750	.37040	1	1
O12	N07I	3.16998	.00259	4 1.-1. 0.	.20410	.23750	.37040	.48330	.12480	.18060	1	1
O12	N09J	3.05435	.00226	3 0. 0. 1.	.20410	.23750	.37040	.46280	.06840	.47220	1	1
O12	N10K	2.90582	.00214	1 1. 0. 0.	.20410	.23750	.37040	.79150	.32900	.34890	1	1
O13	N01L	2.90149	.00259	4 0.-1. 0.	.05430	.19110	-.00210	-.23720	.02960	.07570	2	1
O13	N07I	3.12383	.00298	4 1.-1. 0.	.05430	.19110	-.00210	.48330	.12480	.18060	2	1
O13	N08M	2.98924	.00298	3 0. 0. 0.	.05430	.19110	-.00210	.48360	.09810	-.15100	2	1
O13	O13E	2.79672	.00298	3-1. 0. 0.	.05430	.19110	-.00210	-.44570	.30890	.00210	2	2
O13	O13N	2.79672	.00298	3 0. 0. 0.	.05430	.19110	-.00210	.55430	.30890	.00210	2	2

## 5. FOLSAEURE (nach Dunn [15] und Peng [29])

### 5.1. 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon (Experiment von Dunn [15])



Eine Mischung von 8.18g 4-Aminobenzonitril **35** (69.3mmol), 5.69g DL-Glyceraldehyd **36** (63mmol), 3.4ml Wasser (189mmol) und 72 $\mu$ l Essigsäure (1.26mmol) wurden in einen 50ml-Kolben mit Magnetruhrer gefüllt. Der Kolben wurde unter Argon gesetzt, gerührt und für 45min in ein auf 110°C vorgeheiztes Ölbad getaucht. Das schwarze Reaktionsgemisch wurde in Methanol gelöst, auf Kieselgel adsorbiert und in zwei Hälften über 150g Kieselgel flash-chromatographiert [54]. Folgender Elutionsgradient wurde verwendet: Hexan zu Dichloromethan, 100ml Portionen, 5% Gradient; Dichloromethan zu Dichloromethan (50%) in Ethylacetat, 80ml Portionen, 5% Gradient; Dichloromethan (50%) in Ethylacetat, 400ml Portion; Dichloromethan (50-100%) in Ethylacetat, 80ml Portionen, 5% Gradient; Ethylacetat, 400ml Portion.

Dichloromethan (85%) in Hexan zu Dichloromethan (76%) in Ethylacetat eluierte ein Gemisch von 2.54g unverändertem 4-Aminobenzonitril **35**<sup>1</sup> (31%) und 2-(4-Cyanophenylamino)-N,N'-bis(4-Cyanophenyl)propionamidin **99**, das durch weitere Flash-Chromatographie zu 120mg (0.5%) zu reinem Amidin **99** gereinigt wurde. Dichloromethan (50%-35%) in Ethylacetat eluierte das unbekannte Produkt C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> **101**, das aus Dichloromethan 0.43g schwach crème-farbene Kristalle ergab. Dichloromethan (35-0%) in Ethylacetat eluierte rohes 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** als viskose, braune und gummiartige Masse, die mit wenig Ethanol versetzt ein schwach braunes Pulver gab. Durch Zugabe von Ethylacetat zum Ethanolfiltrat erhielt man zusätzliches Produkt. Kristallisation aus Ethanol ergab 2.1g (18%) reines 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** als schwach gelbe Nadeln. Alle Ethanol/Ethylacetat-Filtrate wurden vereinigt, durch Flash-Chromatographie erneut gereinigt, um nach Kristallisation aus Methanol 0.58g (5%) eines unbekanntes Kondensationsproduktes C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> **100** in Form von farblosen Nadeln zu geben.

Analytische Daten von 2-(4-Cyanophenylamino)-N,N'-bis(4-Cyanophenyl)propionamidin **99**

C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub> 390.47

MS EI  
391 (4, M+1), 390 (17, M), 209 (14), 145 (70, NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH=CHCH<sub>3</sub>),  
118 (63, NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>), 102 (16, NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 91 (18), 57 (37), 43 (100)

DC R<sub>f</sub> 0.75, Kieselgel, Ethylacetat /Dichloromethan 3:7,  
Detektion: UV

Smp. 258°C

UV Ethanol  
λ<sub>max</sub>: 291nm (lge = 4.60), 213nm (sh, 4.39), 203nm (4.54)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
1.55 (d, J=6.9Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.08 (qd, J<sub>1</sub>=6.9Hz J<sub>2</sub>=5.5Hz, 1H,

---

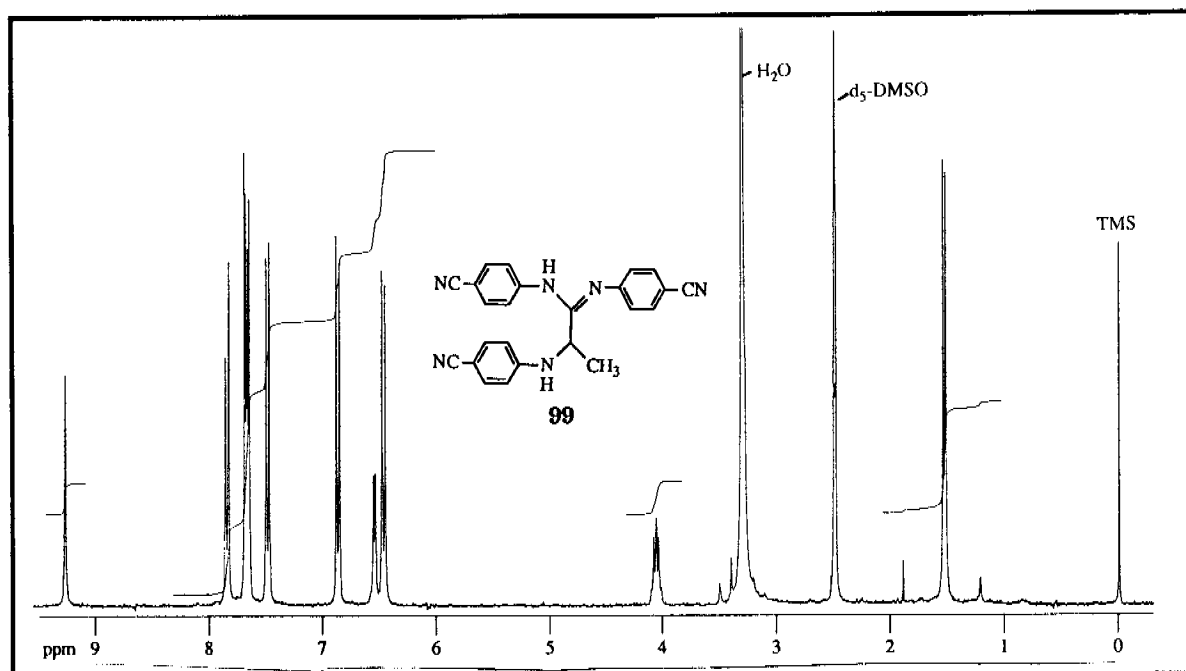
<sup>1</sup> DC, Kieselgel, Ethylacetat/Dichloromethan 3:7, Detektion UV: R<sub>f</sub> 0.83



$\underline{\text{C}}\text{HCH}_3$ , bei Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$  wird das Signal zu einem q reduziert), 6.49 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H,  $2 \cdot \text{C}(5)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 6.57 (d,  $J=5.5\text{Hz}$ , 1H,  $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{H}$ , tauscht mit  $\text{D}_2\text{O}$  aus), 6.90 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(10)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.52 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(6)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.69 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(11)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.70 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(15)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.87 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(16)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 9.31(s, 1H,  $\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ , tauscht mit  $\text{D}_2\text{O}$  aus)

$^1\text{H-NMR}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$   
 1.52 (d,  $J=6.77\text{Hz}$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.15 (m, 2H,  $\underline{\text{C}}\text{HCH}_3$  und  $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{H}$ ),  
 6.71 (d,  $J=8.79\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(5)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 6.99 (d,  $J=8.63\text{Hz}$ , 2H,  
 $2\text{C}(10)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.54 (d,  $J=8.79\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(6)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.57 (d,  
 $J=8.79\text{Hz}$ , 2H,  $2\text{C}(15)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.65 (d,  $J=8.63\text{Hz}$ , 2H,  
 $2\text{C}(11)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ), 7.74 (d+s,  $J=8.5\text{Hz}$ , 3H,  $2\text{C}(16)(\text{Ar})\underline{\text{H}}$ ) +  $\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ )

IR KBr  
 3380 m, 3318 m, 2220 s, 1651 s, 1610 s, 1598 s, 1586 s, 1520 br s,  
 1494 s, 1410 m, 1327 s, 1200 m, 1174 s, 830 m, 548 m



300 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 2-(4-Cyanophenylamino)- $N,N'$ -bis-(4-Cyanophenyl)propionamidin **99** in  $d_6$ -DMSO

Analytische Daten des unbekanntes Produktes  $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$  **101**:

$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$  227.23

MS EI  
293 (0.5), 189 (0.5), 160 (1.7), 146 (68), 118(100), 91 (35)  
Zahlreiche Versuche mit verschiedenen Methoden, ein zufriedenstellendes FAB-MS zu erhalten misslingen.

EA	ber.	C 63.43	H 3.96	N 18.49
	gef.	C 63.74	H 4.10	N 18.46

DC  $R_f$  0.45, Kieselgel, Ethylacetat /Dichloromethan 3:7,  
Detektion: UV

Smp. 178-180°C

UV Ethanol  
 $\lambda_{\text{max}}$ : 277nm (sh, lge = 1.98), 266nm (2.11), 208nm (2.02)

$^1\text{H}$ -NMR 300 MHz,  $d_6$ -DMSO  
7.37 (d,  $J=8.63\text{Hz}$ , 2H), 7.78 (m, ca.16H), 8.37 (d,  $J=1.6$ , s bei

Zugabe von D<sub>2</sub>O), 8.99 (d, J=10.4Hz, 1H, s bei Zugabe von D<sub>2</sub>O),  
10.53 (d br, J=10.4Hz, 1H, tauscht mit D<sub>2</sub>O aus) 10.64 (s br, 2H,  
tauscht mit D<sub>2</sub>O aus)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, CD<sub>3</sub>OD

7.34 (d, J=8.71Hz, 2H), 7.68 (d, J=8.98Hz, ca.11H), 7.77 (d,  
J=8.90Hz, ca. 9-10H), 8.34 (s, 4H), 8.93 (s, 1H)

<sup>13</sup>C-NMR 75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD

108.1 (s), 118.8 (d), 119.7 (s), 121.0 (d), 134.3 (d), 134.9 (d), 143.3 (s),  
161.9 (d), 164.2 (d)

IR KBr,

3325 m, 3080 m, 2225 s, 1702 s, 1609 s, 1490 m, 1412 m, 1308 s,  
1282 s, 1218 m, 1182 s, 838 s, 550 s

Analytische Daten von 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41**

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 190.21

MS EI

190 (10, M), 131 (100, NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH=CH<sub>2</sub>), 118 (10, NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>),  
102 (13, NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

EA	ber.	C 63.15	H 5.30	N 14.73
	gef.	C 62.91	H 5.21	N 14.61

DC R<sub>f</sub> 0.35, Kieselgel, Ethylacetat /Dichloromethan 3:7,  
Detektion: UV; R<sub>f</sub> 0.33, Kieselgel, Diethylether, Detektion: UV

Smp. 115-116°C

UV Ethanol: λ<sub>max</sub>: 279nm (lgε = 4.34), 215nm (3.99)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO

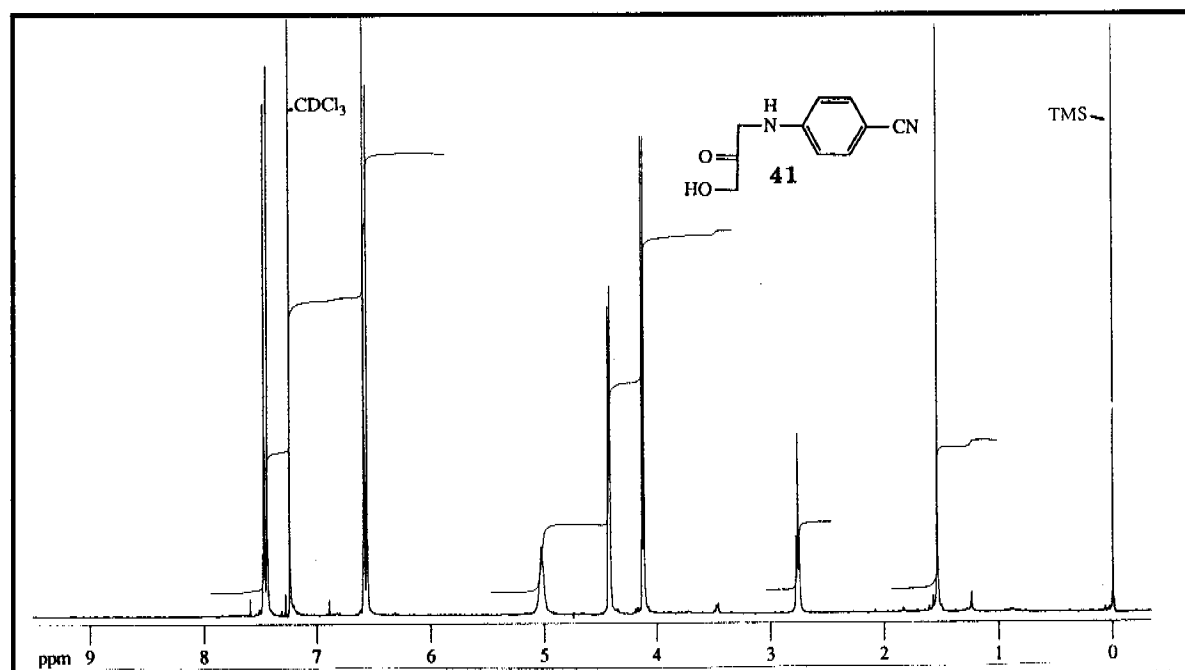
4.16 (d, J=5.6Hz, CH<sub>2</sub>N), 4.19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 5.29 (s br, tauscht  
mit D<sub>2</sub>O aus, OH), 6.64 (d, J=8.8Hz, 2H, 2C(5)(Ar)H), 6.83 (t,  
J=5.6Hz, 1H, tauscht mit D<sub>2</sub>O aus, NH) 7.45 (d, J=8.9Hz, 2H,  
2C(6)(Ar)H)

$^1\text{H-NMR}$  300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$   
 4.17 (s,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.32 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6.66 (dd,  $J_1=6.9\text{Hz}$   $J_2=2.1\text{Hz}$ ,  
 2H, 2C(5)(Ar)H), 7.43 (dd,  $J_1=6.9\text{Hz}$   $J_2=2.1\text{Hz}$ , 2H, 2C(6)(Ar)H)

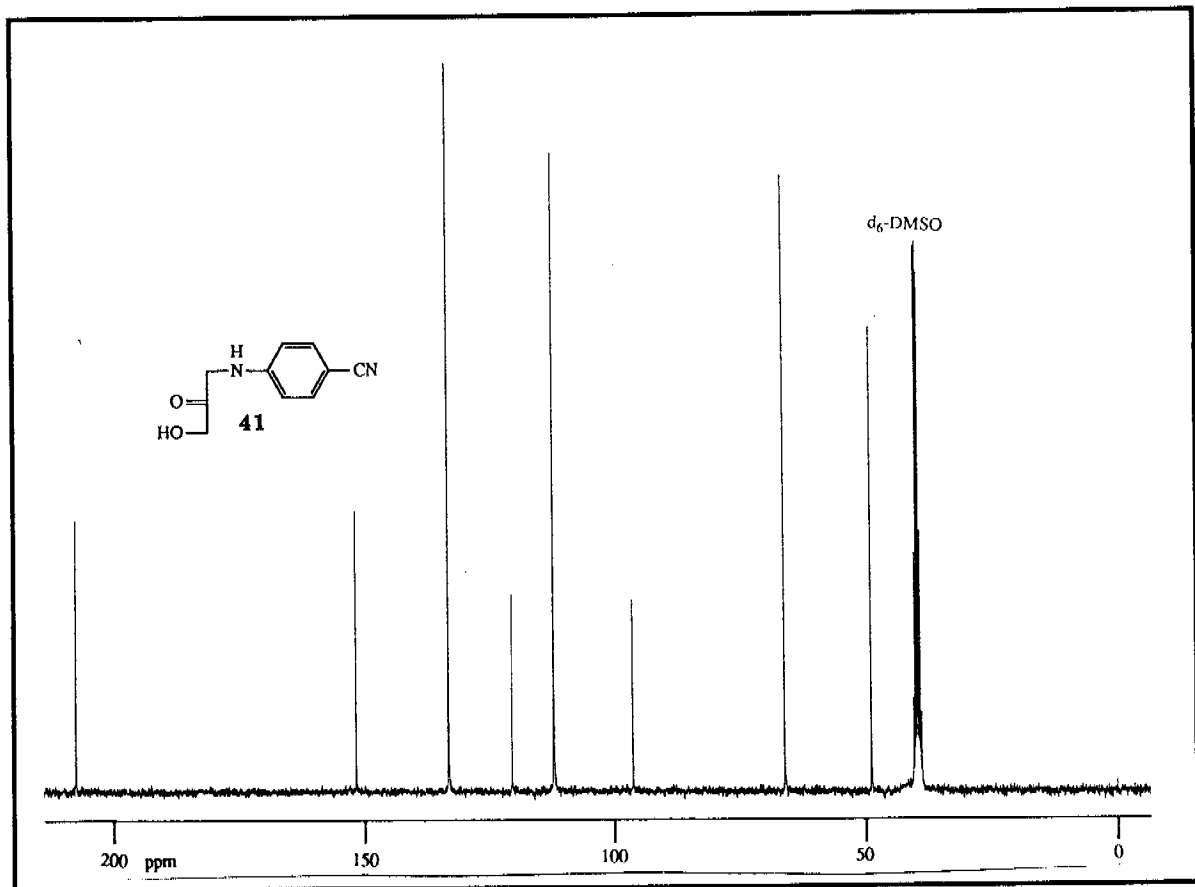
$^1\text{H-NMR}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$   
 2.78 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , OH), 4.15 (d,  $J=4.7\text{Hz}$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.44 (d,  
 $J=4.7\text{Hz}$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 5.05 (s br, 1H, NH), 6.59 (dd,  $J_1=6.8\text{Hz}$   
 $J_2=2.0\text{Hz}$ , 2H, 2C(5)(Ar)H), 7.47 (dd,  $J_1=6.8\text{Hz}$   $J_2=2.0\text{Hz}$ , 2H,  
 2C(6)(Ar)H)

$^{13}\text{C-NMR}$  75.5 MHz,  $d_6\text{-DMSO}$   
 48.7 (t, C(1)), 66.1 (t, C(3)), 96.3 (s, C(7)), 112.1 (d, C(5)), 120.3 (s,  
 C(8)), 133.1 (d, C(6)), 151.7 (s, C(4)), 207.6 (s, C(2))

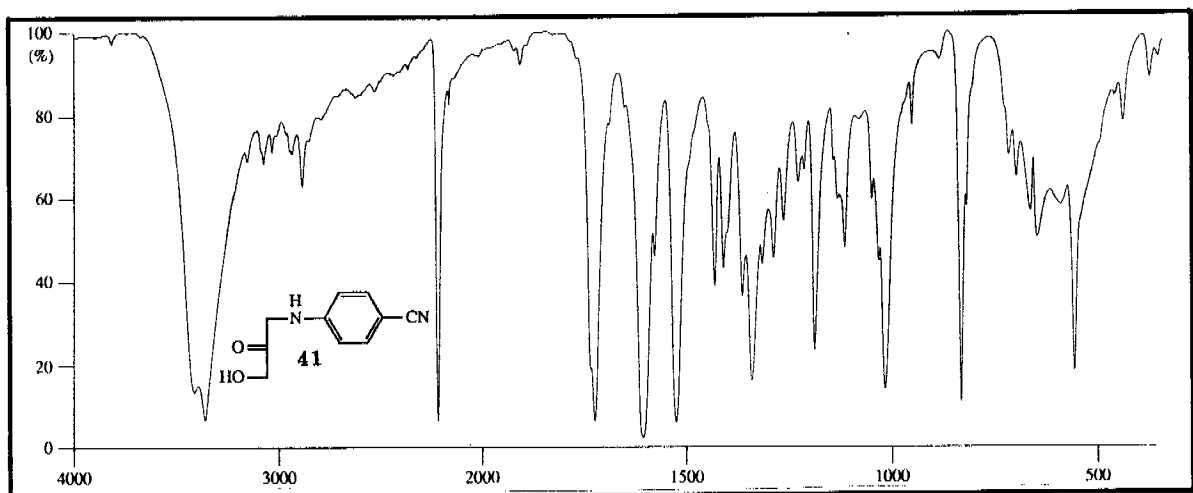
IR KBr,  $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$   
 3415 s, 3360 s, 3070 w, 2880 w, 2118 s, 1735 s, 1610 s, 1580 m,  
 1527 s, 1430 m, 1410 m, 1362 m, 1340 s, 1320 m, 1286 m, 1223 w,  
 1210 w, 1193 s, 1110 m, 1011s, 827 s, 546 s



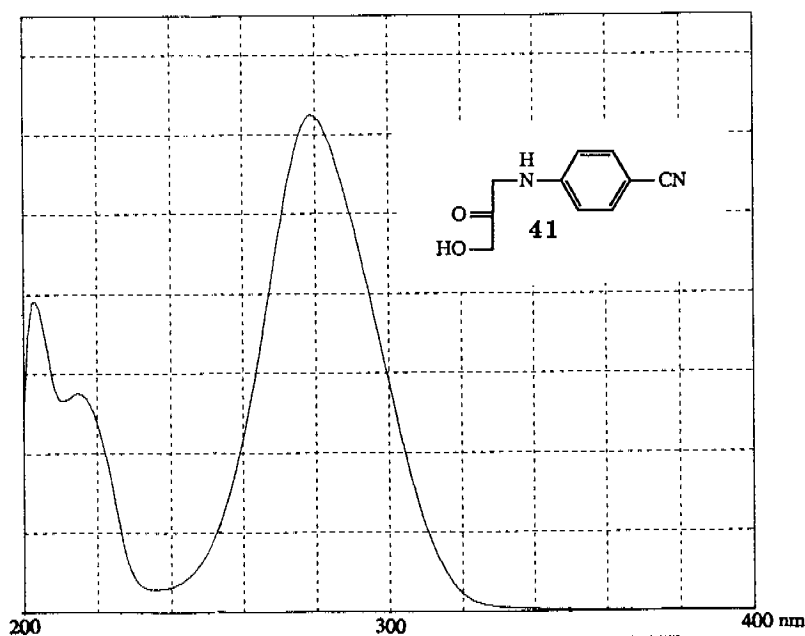
300 MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41**  
 in  $\text{CDCl}_3$



75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** in  $d_6$ -DMSO



IR-Spektrum von 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** in KBr



UV-Spektrum von 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxyhydroxy-2-propanon 41 in Ethanol

Analytische Daten des Produktes  $C_{20}H_{18}N_4O_3$  100

$C_{20}H_{18}N_4O_3$  362.4

MS FAB positiv, NOBA  
363 (18, M+1), 77 (100)

DC  $R_f$  0.35, Kieselgel, Ethylacetat /Dichloromethan 3:7,  
Detektion: UV  
 $R_f$  0.21, Kieselgel, Diethylether, Detektion: UV

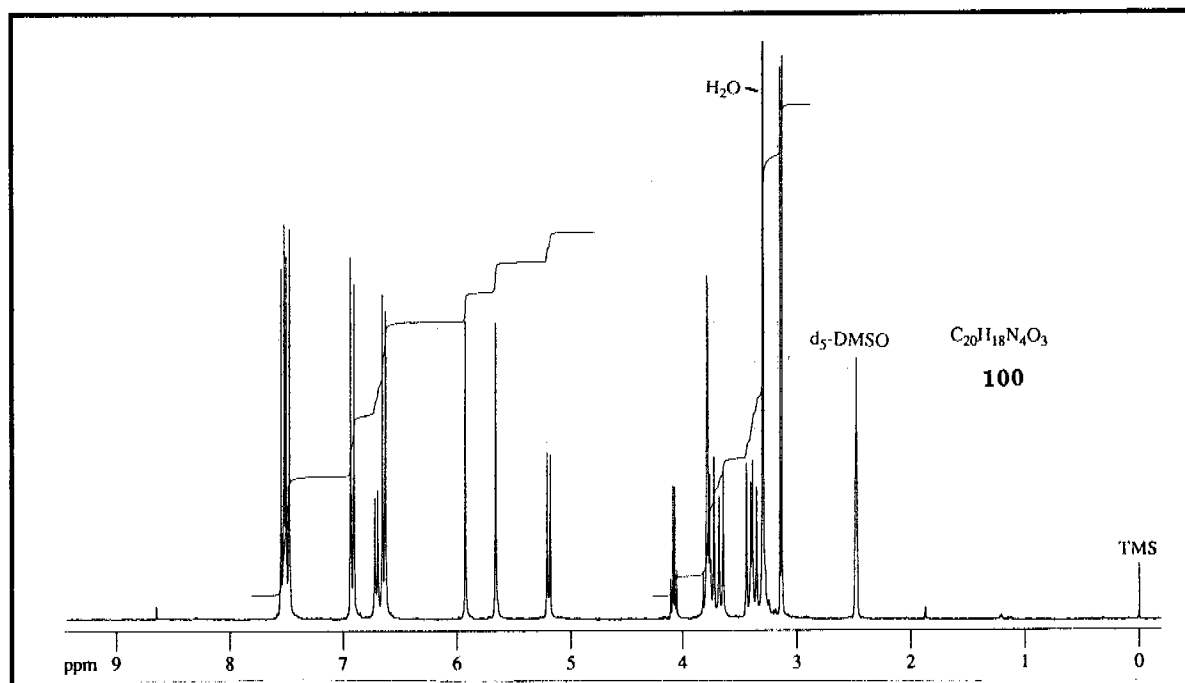
Smp. 151-152°C

UV Ethanol  
 $\lambda_{max}$ : 287nm ( $\lg \epsilon = 4.42$ ), 216nm (4.04)

$^1\text{H-NMR}$  300 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 3.40 (d,  $J=11.0\text{Hz}$ , 1H), 3.45 (d,  $J=11.0\text{Hz}$ , 1H), 3.68 (d,  
 $J=11.0\text{Hz}$ , 1H), 3.77 (d,  $J=11.0\text{Hz}$ , 1H), 3.81 (AB q,  $\delta_A = 3.82$ ,  $\delta_B =$   
 $3.80$ ,  $J=9.27\text{Hz}$ , 2H), 5.22 (d, 8.16H, 1H, s bei Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$ ),  
 5.68 (s, 1H, tauscht mit  $\text{D}_2\text{O}$  aus), 5.94 (s, 1H, tauscht mit  $\text{D}_2\text{O}$   
 aus), 6.66 (d,  $J=8.97\text{Hz}$ , 2H, 2ArH), 6.72 (d,  $J=8.22\text{Hz}$ , 1H,  
 tauscht mit  $\text{D}_2\text{O}$  aus), 6.94 (d,  $J=8.88\text{Hz}$ , 2H, 2ArH), 7.51 (d,  
 $J=8.79\text{Hz}$ , 2H, 2ArH), 7.57 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H, 2ArH)

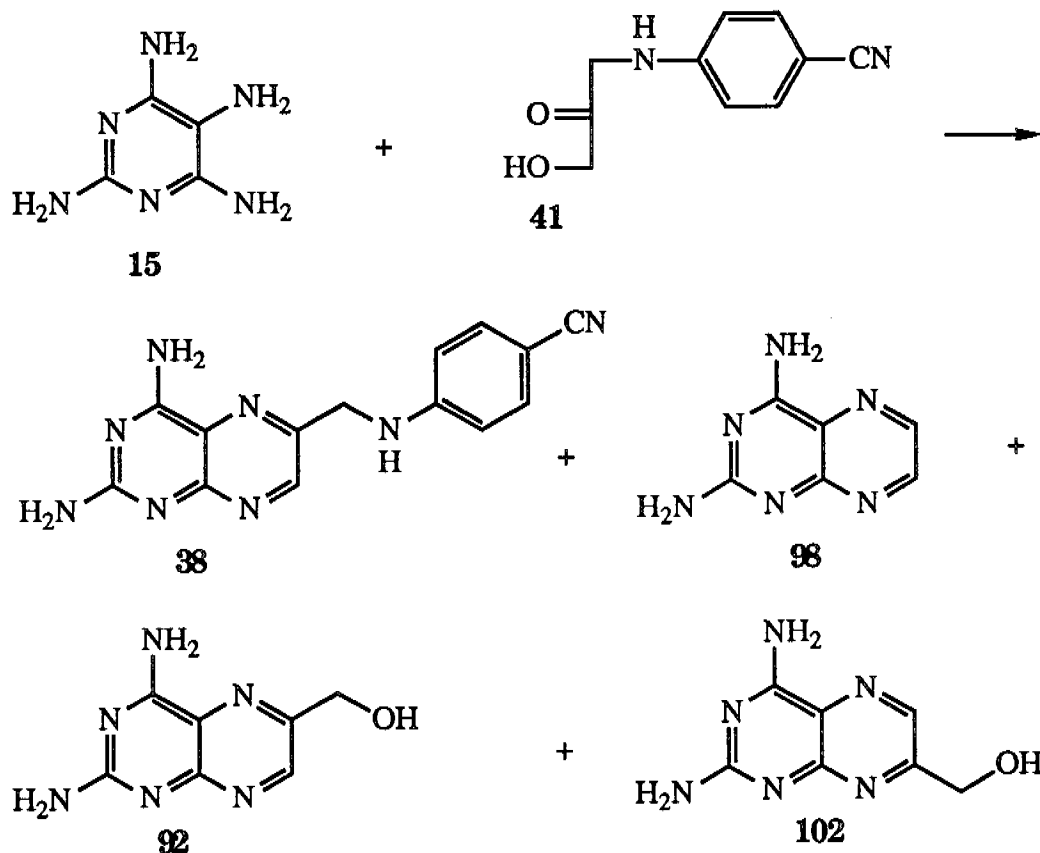
$^{13}\text{C-NMR}$  75.5 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 56.8 (t), 57.6 (t), 73.7 (t), 81.9 (s), 82.3 (s), 87.3 (d), 96.6 (s), 98.3 (s),  
 112.2 (d), 113.8 (d), 120.0 (s), 120.2 (s), 133.1 (d), 149.9 (s), 150.0 (s)

IR KBr,  $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$   
 3380 s br, 2840 w, 2218 s, 1608 s, 1540 s, 1467 m, 1390 m, 1327 m,  
 1175 s, 1155 m, 1002 m, 827 m, 820 m 498 m



300 MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produktes  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$  100 in  $d_6$ -DMSO

## 5.2. Azafolsäure<sup>1</sup> (Experiment von Dunn [15])



### 5.2.1. Ansatz mit Ausbeutebestimmung

20mg (0.143mmol) 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidin **15**<sup>2</sup>, 54mg (0.286mmol) 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** und 3ml entgastes Acetonitril wurden 5 Tage bei 65°C gehalten. 20ml Methanol wurden zugegeben und das Reaktionsgemisch auf Kieselgel adsorbiert und durch Flash-Chroma-

<sup>1</sup>Zur Nomenklatur: Unter Folsäure **34** wird hier die freie Säure ohne Glutaminsäurerest verstanden. Die Azafolsäure **38** ist die korrespondierende Form vor jeglicher Hydrolyse, das heisst Nitril- statt Säurefunktion und Amidfunktion anstelle der Amidfunktion im Pteridinteil.

<sup>2</sup>Freigesetzt aus dem Sulfat nach Trinks [14]



tographie über 50g Kieselgel aufgetrennt. Folgender Gradient wurde benutzt: Hexan zu Dichloromethan, 3.33% Gradient , 30ml Portionen; Dichloromethan zu Ethylacetat, 3.33% Gradient , 30ml Portionen; Ethylacetat zu Ethylacetat (75%) in Methanol, 1% Gradient, 25ml Portionen; Ethylacetat (76-0%) in Methanol, 4% Gradient, 25ml Portionen.

Die ersten 60 Fraktionen wurden zusammen gesammelt und verworfen. Ethylacetat (85-79%) in Methanol eluierte eine Mischung von Pteridinen. Die Lösung wurde eingedampft und der Rückstand mit 2x2ml Methanol gewaschen, was 1.5mg (3.6%) reine Azafolsäure **38** ergab. Eindampfen der vereinigten Methanolwaschlösungen gab 4.1mg einer Mischung von Pteridinen, die gemäss <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum aus 8 Teilen Azafolsäure **38** (8.8%) und einem Teil 2,4-Diaminopteridin **98** (2%) bestand.

Ethylacetat (78-60%) in Methanol eluierte 5.5mg einer Mischung von Pteridinen, die gemäss <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum aus 7 Teilen Azafolsäure **38** (9.2%), zwei Teilen 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92** (4%) und einem Teil 2,4-Diamino-7-(hydroxymethyl)pteridin **102** (2%) bestand.

### 5.2.2. Ansatz mit Charakterisierung aller Produkte

26mg (0.19mmol) 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidin<sup>1</sup> **15**, 70.6mg (0.37mmol) 1-(4-Cyanophenylamino)-3-hydroxy-2-propanon **41** und 4ml entgastes Acetonitril wurden 20 Tage im Handschuhkasten bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde abgedampft und die Rückstände durch Flash-Chromatographie über 50g Kieselgel aufgetrennt. Folgender Gradient wurde benutzt: Hexan zu Dichloromethan, 3.33% Gradient , 30ml Portionen; Dichloromethan zu Ethylacetat, 3.33% Gradient, 30ml Portionen; Ethylacetat zu Ethylacetat (75%) in Methanol, 1% Gradient, 25ml Portionen; Ethylacetat (75-35%) in Methanol, 4% Gradient, 25ml Portionen.

Dichloromethan (65-100%) in Hexan eluierte 3.5mg (8%) 4-Aminobenzonitril **35**, Ethylacetat (40-50%) in Dichloromethan eluierte 4mg des unbekanntes

---

<sup>1</sup>Freigesetzt aus dem Sulfat nach Trinks [14]

Produktes  $C_{12}H_9N_3O_2$  **101**<sup>1</sup>, Methanol (18-23%) in Ethylacetat eluierte rohe Azafolsäure **38**<sup>2</sup>. Die Lösungsmittel wurden eingedampft und ergaben einen festen Rückstand, der zwei Mal mit Methanol gewaschen 0.8mg (1.4%) reine Azafolsäure **38** (Fraktion 1) ergab. Eindampfen der vereinigten Methanolwaschlösungen gab 2.1mg Rückstand (Fraktion 2), der gemäss <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum aus 10 Teilen Azafolsäure **38** (3.4%) und einem Teil 2,4-Diaminopteridin **98** (0.3%) bestand.

Methanol (25-48%) in Ethylacetat eluierte 10.5mg eines Gemisches (Fraktion 3), das gemäss <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum aus 2 Teilen 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92** (19%) und einem Teil 2,4-Diamino-7-(hydroxymethyl)pteridin **102** (10%) bestand.

Analytische Daten von Azafolsäure **38** aus diesem Experiment (Fraktion 1):

$C_{14}H_{12}N_8$  292.33

DC  $R_f$  0.39, Kieselgel, Ethylacetat /Methanol 4:1, Detektion: UV

UV NaOH 0.01M in Methanol  
 $\lambda_{max}$ : 372nm, 279nm, 265nm (sh)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz,  $d_6$ -DMSO  
 4.51 (d,  $J=5.2$ Hz, 2H,  $CH_2NHAr$ ), 6.61 (s br, 2H,  $NH_2$ ), 6.81 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H, 2C(11)(Ar)H), 7.24 (t,  $J=5.2$ Hz, 1H, NH), 7.51 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H, 2C(12)(Ar)H), 7.69/7.78 (br, 2H,  $NH_2$ ), 8.69 (s, 1H, C(7)H)

---

<sup>1</sup>Die analytischen Daten von **101** sind im Experiment 5.1. dieses Kapitels beschrieben.

<sup>2</sup>Die reinste Probe von Azafolsäure **38** wurde durch Zentrifugieren des Reaktionsgemisches und Verwerfen der überstehenden Lösung gewonnen. Der feste Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie - wie oben beschrieben - gereinigt, aber die einzelnen Hexan/Dichloromethan- und Dichloromethan/Ethylacetat-Fractionen wurden in grossen Gläsern gesammelt, um so die Kontaktzeit zwischen Azafolsäure **38** und Kieselgel zu reduzieren.

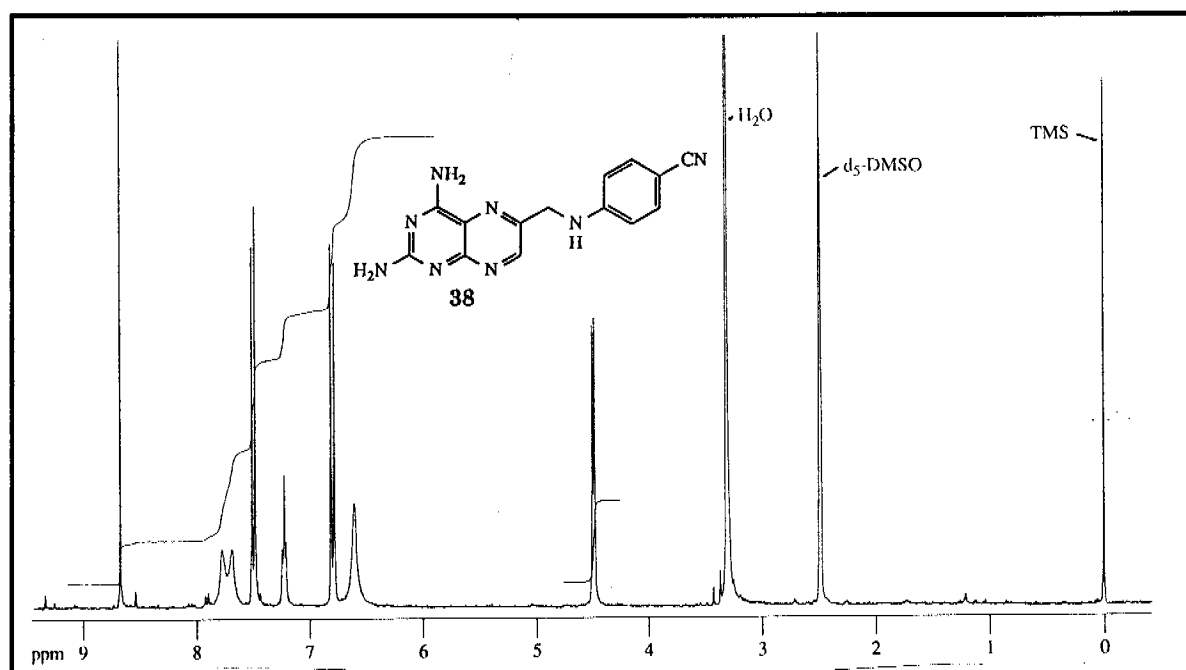
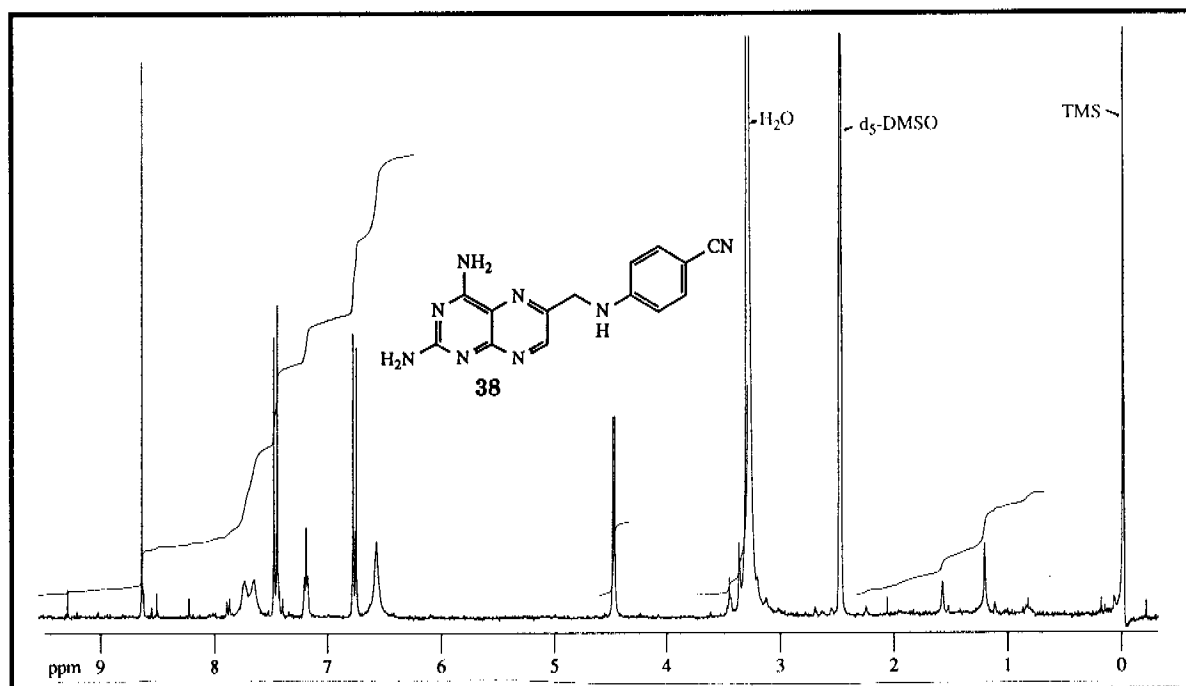
Analytische Daten<sup>1</sup> von Azafolsäure **38** aus unabhängiger Synthese<sup>2</sup> ([35a] und [78]):

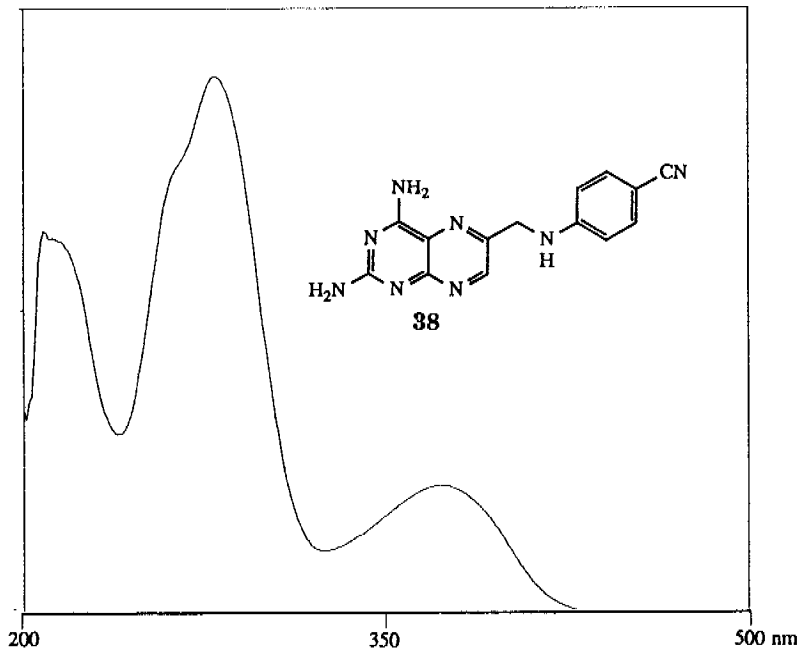
$C_{14}H_{12}N_8$	292.33
MS	EI 292 (19, M), 175 (100, M - HNC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CN), 106 (10), 102 (10), 43 (57)
DC	R <sub>f</sub> 0.39, Kieselgel, Ethylacetat /Methanol 4:1, Detektion: UV
Smp.	>330°C
UV	NaOH 0.01M in Methanol $\lambda_{\max}$ : 372.5nm (lg $\epsilon$ = 3.79), 279nm (4.40), 265nm (sh 4.32), 216nm (4.16)
<sup>1</sup> H-NMR	300 MHz, d <sub>6</sub> -DMSO 4.51 (d, J=5Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.63 (s br, 2H, NH <sub>2</sub> ), 6.81 (d, J=8.8Hz, 2H, 2C(11)(Ar)H), 7.24 (t, J=5Hz, 1H, NH), 7.51 (d, J=8.8Hz, 2H, 2C(12)(Ar)H), 7.70 (s br, 1H, NH), 7.79 (s br, 1H, NH), 8.69 (s, 1H, C(7)H)
IR	KBr, 3345 s, 3190 s, 2220 s, 1675 s, 1650 s, 1609 s, 1550 s, 1454 s, 1339 m, 1174 m, 1075 m, 875 m, 545m

---

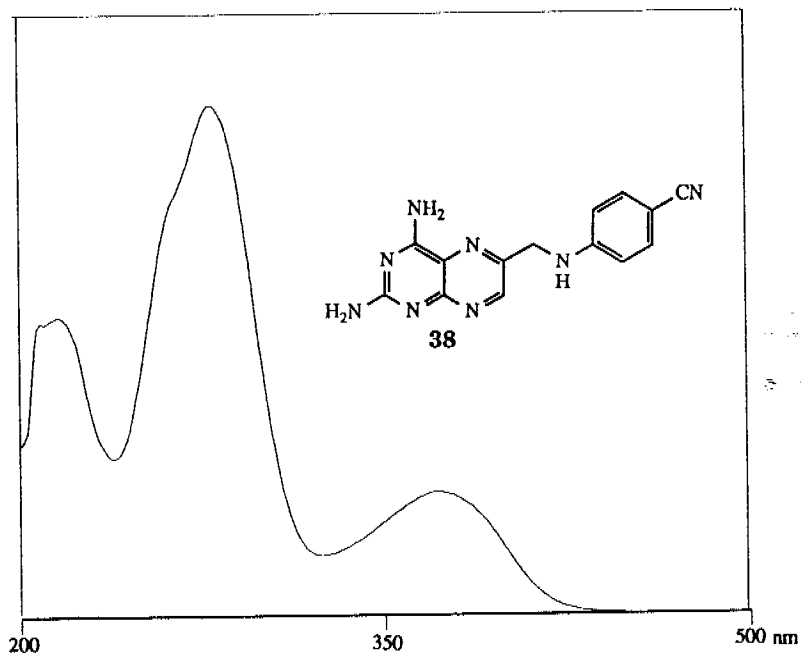
<sup>1</sup>Weitere analytische Daten bei Trinks [14]

<sup>2</sup>Aus Tetraaminopyrimidin **15** mit Dihydroxyaceton zum 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92**, dann zum 2,4-Diamino-6-(bromomethyl)pteridin und mit 4-Aminobenzonitril **35** zur Azafolsäure **38**





UV-Spektrum von Azafolsäure **38** (Fraktion 1) mit Glycerinaldehyd als C<sub>3</sub>-Baustein aus Experiment 5.2.2., aufgenommen in methanolischem NaOH 0.01M



UV-Spektrum von Azafolsäure **38** (Fraktion 1) aus unabhängiger Synthese mit Dihydroxyaceton als C<sub>3</sub>-Baustein (Fussnote oben, vgl. S. 215), aufgenommen in methanolischem NaOH 0.01M

Analytische Daten von 2,4-Diaminopteridin **98** in Fraktion 2:

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
 6.68 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.70 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.27 (d, J=2.07Hz, 1H, C(6)H), 8.67 (d, J=2.07Hz, 1H, C(7)H)  
 neben Signalen der Azafolsäure

Analytische Daten von authentischem 2,4-Diaminopteridin **98**:

MS EI  
 163 (9, M+1), 162 (100, M), 121 (19), 93 (10)

DC R<sub>f</sub> 0.34, Kieselgel, Ethylacetat /Methanol 4:1, Detektion: UV

Smp. 315-320°C<sup>1</sup>

UV NaOH 0.01M in Methanol  
 λ<sub>max</sub>: 369nm (lgε = 3.78), 257nm (4.27), 223nm (4.03)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
 6.68 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.70 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.27 (d, J=2.04Hz, 1H, C(6)H), 8.68 (d, J=2.04Hz, 1H, C(7)H)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, CF<sub>3</sub>COOD  
 8.29 (s, 1H, C(6)H), 8.90 (s, 1H, C(7)H)

## Analytische Daten von Fraktion 3:

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO  
 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92**  
 4.63 (s, 2H, C(6)CH<sub>2</sub>OH), 5.52 (s br, 1H, OH), 6.57 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>),  
 7.57 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.75 (s, 1H, C(7)-H)

2,4-Diamino-7-(hydroxymethyl)pteridin **102**  
 4.62 (s, 2H, C(7)CH<sub>2</sub>OH), 5.42 (s br, 1H, OH), 6.57 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>),  
 7.57 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.37 (s, 1H, C(6)-H)

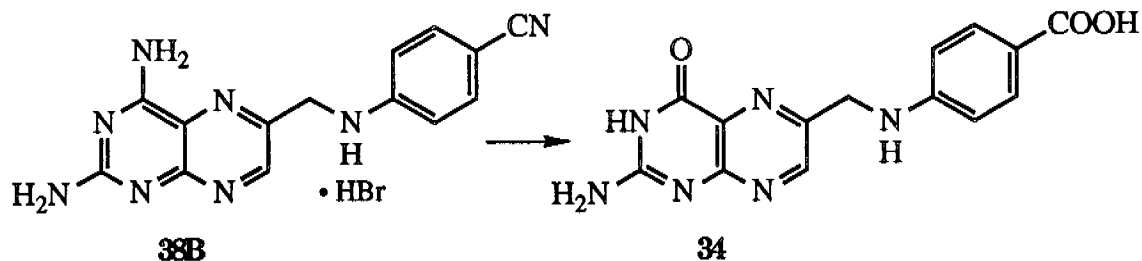
---

<sup>1</sup>Smp. nach Sublimation in [94]: 320-322°C

Analytische Daten von authentischem 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin **92**:

MS	EI 193 (10, M+1), 192 (100, M), 191 (11, M-1), 176 (13), 175 (15), 163 (75), 146 (17), 121 (10), 68 (17), 66 (17), 43 (86)
DC	R <sub>f</sub> 0.18, Kieselgel, Ethylacetat /Methanol 4:1, Detektion: UV, Fluoreszenz
Smp.	>300°C (Lit: >300°C [35a])
UV	NaOH 0.01M in Methanol $\lambda_{\text{max}}$ : 372nm (lg $\epsilon$ = 3.78), 259nm (4.30), 221nm (4.04), 205nm (4.58)
<sup>1</sup> H-NMR	300 MHz, d <sub>6</sub> -DMSO 4.64 (d, J=5.5Hz, 2H, CH <sub>2</sub> OH), 5.46 (t, J=5.5Hz, 1H, OH), 6.59 (s br, 2H, NH <sub>2</sub> ), 7.60 (s br, 2H, NH <sub>2</sub> ), 8.76 (s, 1H, C(7)-H)
IR	KBr, 3420 s, 3315 s, 3135 s, 1630 s, 1586 s, 1566 s, 1540 s, 1440 s, 1364 s, 1318 w, 1206 m, 1196 m, 1090 w, 1053 m, 980 m, 929 w, 825 m, 765 m, 570 m, 446 m, 395 w

### 5.3. Folsäure<sup>1</sup> (Experiment von Peng [29])



380mg (1.02mmol) Azafolsäure-hydrobromid **38B** (4-[6'-(2',4'-Diaminopterinyl)methyl]aminobenzonitril-hydrobromid) wurden in 500ml Kalilauge 0.5M gelöst und 30h bei 100°C unter Stickstoff am Rückfluss gekocht. Die Reaktionslösung wurde mit HCl 2N bis pH 4 angesäuert und bei 4°C über Nacht stengelassen, wobei ein gelber Niederschlag ausfiel. Der durch Zentrifugieren gesammelte Niederschlag wurde in 20ml Wasser suspendiert, mit Natronlauge 1N gelöst und dann mit HCl 2N wieder ausgefällt. Dieser Niederschlag wurde mit Wasser, Ethanol und Diethylether gewaschen und anschliessend getrocknet (HV/RT/6h). So erhielt man 210.2mg (66.2%) Folsäure **34**.

Analytische Daten von Folsäure **34** aus diesem Experiment:

Smp. >300°C (Zersetzung)

UV NaOH 0.1M  
 $\lambda_{\max}$ : 365nm ( $\lg \epsilon = 3.96$ ), 256nm (sh, 4.44)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, CF<sub>3</sub>COOD  
 5.31 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-N), 7.94 (d, J=8.3Hz, 2H, Ar-H), 8.45 (d, J=8.2Hz, 2H, Ar-H), 9.04 (s, 1H, C(7)-H)

---

<sup>1</sup>Zur Nomenklatur: Unter Folsäure **34** wird hier die freie Säure ohne Glutaminsäurerest verstanden. Die Azafolsäure **38** ist die korrespondierende Form vor jeglicher Hydrolyse, das heisst Nitril- statt Säurefunktion und Amidfunktion anstelle der Amidfunktion im Pteridinteil.



IR KBr,  
3400-2800 s br, 1625 s, 1600 s, 1530 s, 1480 s, 1385 s, 1260 m, 1172 s

Analytische Daten von Folsäure **34** zum Vergleich aus der literaturbekanntesten [34a] Hydrolyse<sup>1</sup> von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoesäure-hydrobromid:

Smp. >300°C (Zersetzung)

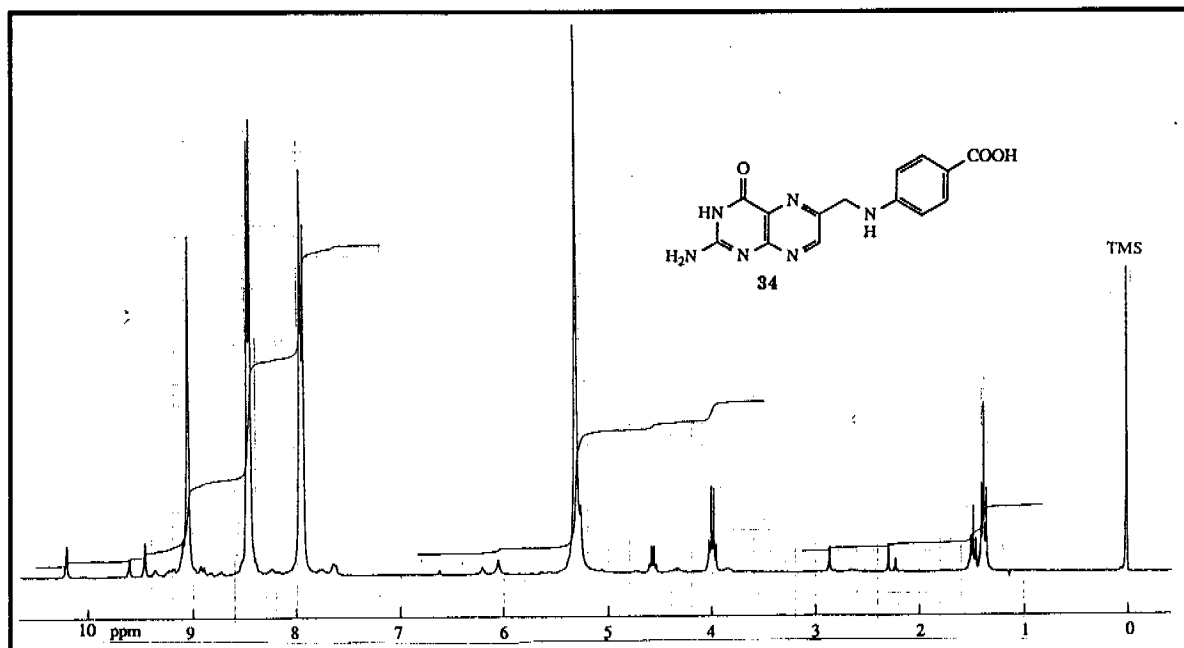
UV NaOH 0.1M  
 $\lambda_{\max}$ : 365nm ( $\lg \epsilon = 3.90$ ), 275nm (4.35), 256nm (4.40)

<sup>1</sup>H-NMR 300 MHz, CF<sub>3</sub>COOD  
5.30 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-N), 7.93 (d, J=8.67Hz, 2H, Ar-H), 8.44 (d, J=8.61Hz, 2H, Ar-H), 9.03 (s, 1H, C(7)-H)

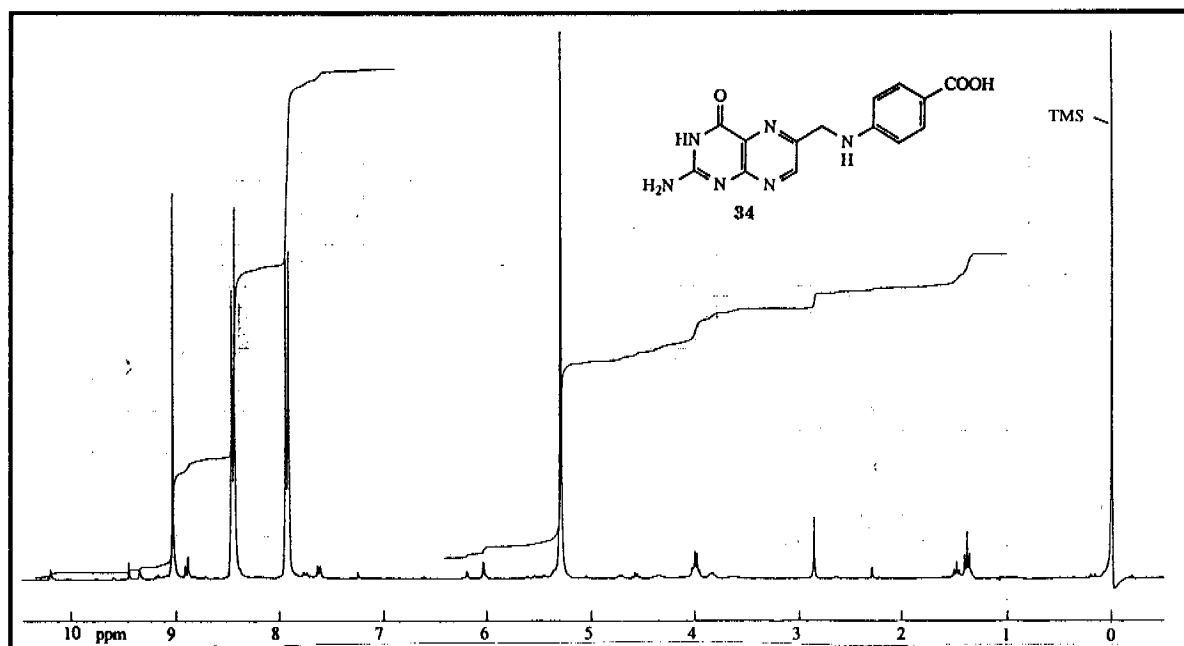
IR KBr:  
3400-2800 s br, 1675 s, 1600 s, 1530 s, 1480 s, 1380 s, 1260 m, 1172 s

---

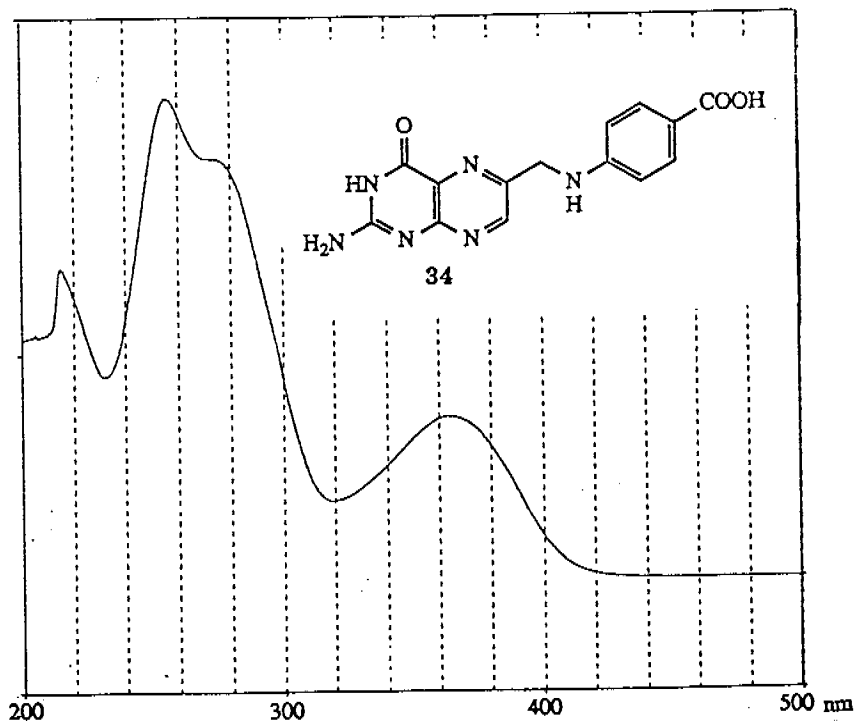
<sup>1</sup>NaOH 0.2N, N<sub>2</sub>, 100°C, 1.5h



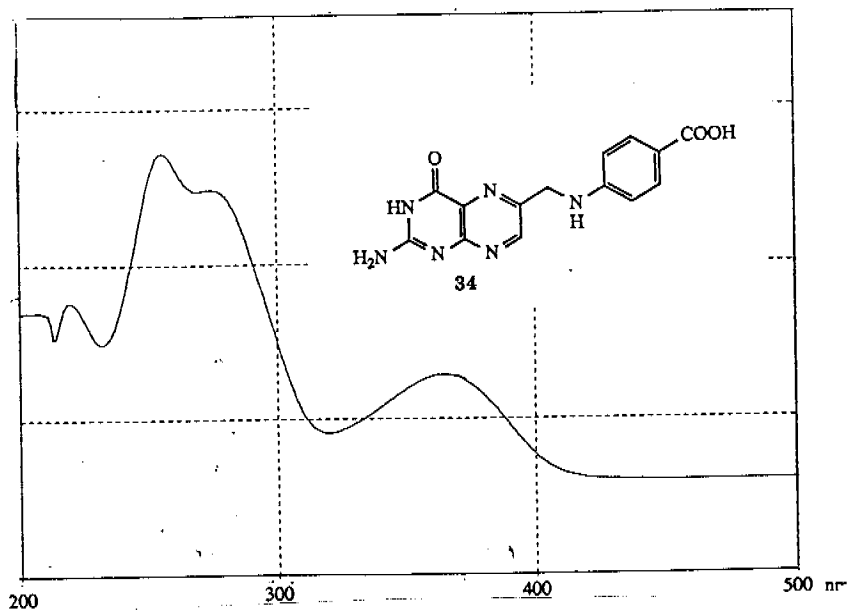
300 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Folsäure **34** aus der Hydrolyse von Azafolsäurehydrobromid **38B** (4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzonitrilhydrobromid), aufgenommen in  $\text{d}_6$ -DMSO



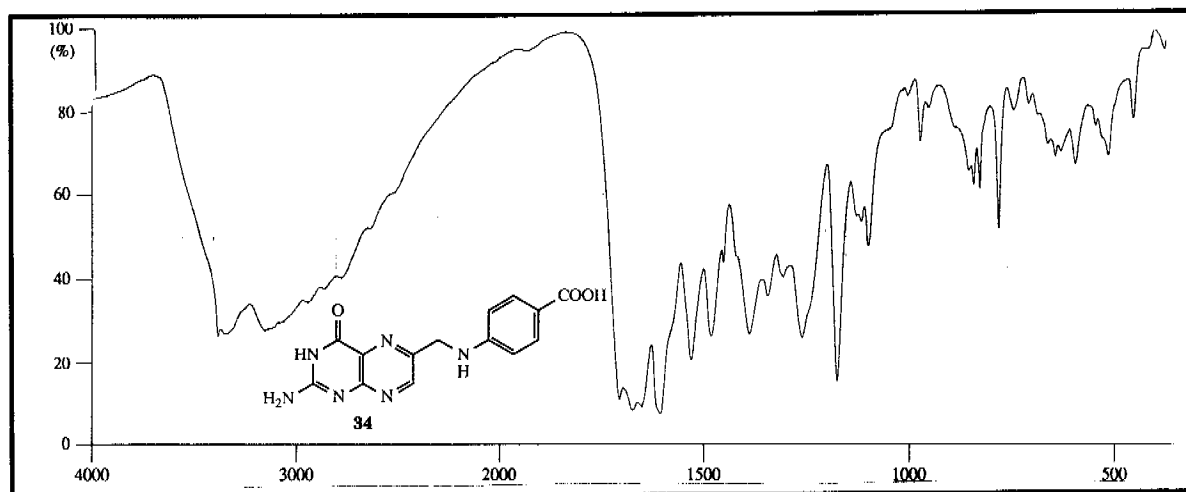
300 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Folsäure **34** aus der Hydrolyse von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoessäurehydrobromid aufgenommen in  $\text{d}_6$ -DMSO



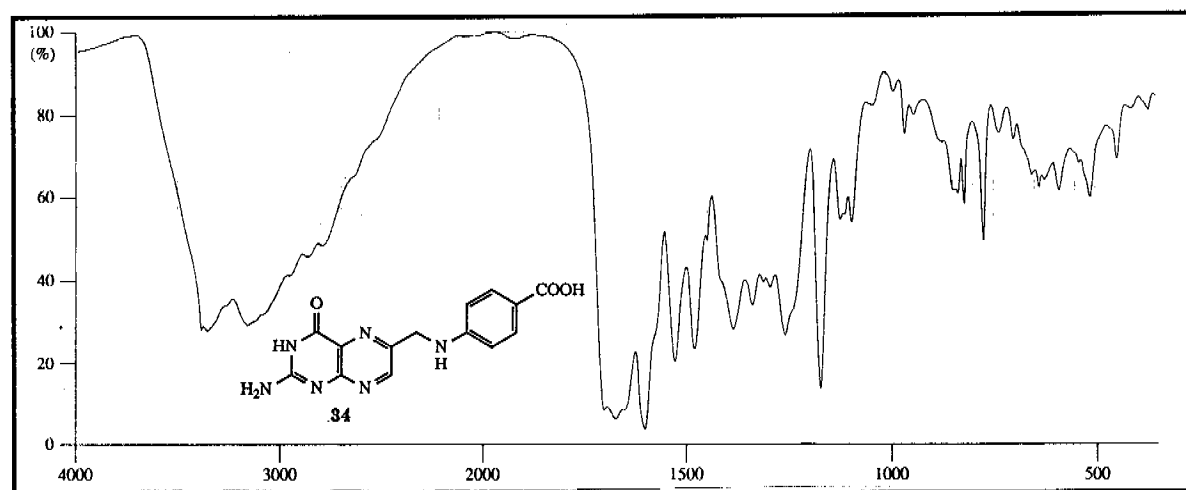
UV-Spektrum von Folsäure 34 aus der Hydrolyse von Azafolsäure-hydrobromid 38B (4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzonitril-hydrobromid), aufgenommen in Methanol



UV-Spektrum von Folsäure 34 aus der Hydrolyse von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzoessäure-hydrobromid, aufgenommen in Methanol



IR-Spektrum von Folsäure **34** aus der Hydrolyse von Azafolsäure-hydrobromid **38B** (4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)methyl]aminobenzonitril-hydrobromid), aufgenommen in KBr



IR-Spektrum von Folsäure **34** aus der Hydrolyse von 4-[6'-(2',4'-Diaminopteridinyl)-methyl]aminobenzoessäure-hydrobromid, aufgenommen in KBr

## Literaturverzeichnis

- [1] R.W. Kaplan, "Der Ursprung des Lebens", Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1972.
- [2] F. Wöhler, *Annalen der Physik*, 1828, 12, 253.
- [3] a) A.I. Oparin, "The origin of life" ("Proiskhozdenie zhizni", übersetzt von A. Synge), 1924, Nachtrag in J.D. Bernal, "The origin of life", p. 199 Weidenfeld and Nicholson, London, 1967.  
b) J.B.S. Haldane, "The origin of life", *Rationalist Annual*, 1929, 148, 3, nachgedruckt in "On being the right size, and other essays" (ed. J. Maynard Smith), p. 101, Oxford University Press, 1985.
- [4] S.L. Miller, *Science*, 1953, 117, 528.
- [5] a) J. Oró, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1960, 2, 407.  
b) J. Oró, A.P. Kimball, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1961, 94, 217.  
c) Y. Yamada, I. Kumashiro, T. Takanishi, *J.Org.Chem.*, 1968, 33, 642.
- [6] J.P. Ferris, L.E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1966, 88, 1074.
- [7] A. Butlerow, *Liebigs Ann. Chem.*, 1861, 120, 295.
- [8] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1888, 21, 988 und E. Fischer, *ibid.*, 1890, 23, 370.
- [9] a) M. Eigen, *Naturwissenschaften*, 1971, 58, 465.  
b) H. Kuhn, *Angew. Chemie*, 1972, 84, 837.
- [10] A. Eschenmoser, Verhandlungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte, 116.Versammlung, Berlin, 1990, Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 135-172 / S.145.
- [11] G. Bold, Dissertation ETH Nr. 7702, Zürich, 1984.
- [12] Y. Xiang, Dissertation ETH Nr. 7993, Zürich, 1986.
- [13] S. Drenkard, Dissertation ETH Nr. 9362, Zürich, 1991.
- [14] U. Trinks, Dissertation ETH Nr. 8368, Zürich, 1987.
- [15] P.J. Dunn, Research Report ETH, Zürich, 1988.
- [16] E.C. Taylor Jr., C.K. Cain, *J. Chem. Soc.*, 1949, 71, 2282.
- [17] C.J. Strupp, Dissertation ETH Nr. 9688, Zürich, 1992.
- [18] J. Bell, *J. Chem. Soc.*, 1926, 78, 1213.
- [19] R.K. Robins, D.J. Dillie, C.H. Willits, B.E. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, 75, 263.
- [20] N. Asai (Sagami Chemical Research Center), *Ger. Offen.*, 2,166,506, 5. Sept. 1974.
- [21] R.B. Trattner, G.B. Elion, G.H. Hitchings, D.M. Sharefkin, *J. Org.*

- Chem.*, 1964, 29, 2674.
- [22] A. Bendich, J.F. Tinker, G.B. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, 1948, 70, 3109.
- [23] a) J. Schwartz, M. Hornyak-Hamor, *Hung. Teljes (Ungarische Patentanmeldung)* 6998, 27. Sept. 1971.  
 b) N. Asai (Sagami Chemical Research Center), Brit. Pat. 1,377,389, (Cl. C07d, (1974), CA 1975, 82, P170957c.
- [24] R.A. Sanchez, J.P. Ferris, L.E. Orgel, *J. Mol. Biol.*, 1967, 30, 223.
- [25] T.R. Rowan, H.C.S. Wood, *Proc. Chem. Soc.*, 1963, 21.
- [26] J. Fuhrhop, G. Penzlin, "Organic Synthesis", Verlag Chemie, Weinheim, 1983, 279.
- [27] P. Cheeseman, A. Tomms-Wood, R.S. Wolfe, *J. Bacteriol.*, 1972, 112, 527.
- [28] L.D. Eirich, G.D. Vogels, R.S. Wolfe, *Biochemistry*, 1978, 17, 4583.
- [29] L. Peng, Diplomarbeit ETH, Zürich, 1989.
- [30] a) K. Baumann, Interner Arbeitsbericht ETH, Zürich, 1986.  
 b) A. Staubli, Diplomarbeit ETH, Zürich, 1985.
- [31] D. Müller, Dissertation ETH Nr. 9280, Zürich, 1990.
- [32] E.C. Taylor, C.K. Cain, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, 71, 2538.
- [33] a) R. Baur, Interner Arbeitsbericht ETH, Zürich, 1981.  
 b) E.C. Taylor, R.F. Abdulla, K. Tanaka, P.A. Jacobi, *J. Org. Chem.*, 1975, 40, 2341.
- [34] a) J.R. Piper, J.A. Montgomery, *J. Org. Chem.*, 1977, 42, 208.  
 b) D.R. Seeger, D.B. Cosulich, J.M. Smith, M.E. Hultquist, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, 71, 1753.
- [35] a) P. Boyle, W. Pfeleiderer, *Chem. Ber.*, 1980, 113, 1514.  
 b) V.M. Clark, H.M. Kalckar, *J. Chem. Soc.*, 1950, 1029.
- [36] a) St. Pitsch, Dissertation ETH in Vorbereitung, Zürich, 1992.  
 b) D. Müller, St. Pitsch, A. Kittaka, E. Wagner, C.E. Wintner, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta*, 1987, 73, 1410.
- [37] a) P. Lorencak, G. Raabe, J.J. Radziszewski, C. Wentrup, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1986, 916.  
 b) C. Wentrup, P. Lorencak, A. Maquestiau, R. Flammang, *Chem. Phys. Lett.*, 1987, 137, 241.
- [38] a) J.P. Ferris, L.E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1966, 88, 3829.  
 b) E.C. Taylor, J.H. Sun, *Synthesis*, 1980, 801.  
 c) T. Freeman, *Synthesis*, 1981, 925.
- [39] R.A. Sanchez, J.P. Ferris, L.E. Orgel, *J. Mol. Biol.*, 1968, 38, 121.
- [40] J.P. Ferris, W.J. Hagan Jr., *Tetrahedron*, 1984, 40, 1093.

- [41] J.P. Ferris, L.E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 1074.
- [42] F. Wöhler, *Annalen der Physik*, 1825, **3**, 177.
- [43] a) M. Ito (Sagami Chemical Research Center), Pat. Jap. **75 16,777**, **1975**  
CA **1975**, *83*, 205797a.  
b) M. Ito (Sagami Chemical Research Center), Pat. Jap. **72 42,819**, **1972**  
CA **1973**, *78*, 57800a.
- [44] a) O. Jacobsen, A. Emmerling, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1871**, *4*, 947.  
b) A. Perret, A. Krawczynski, *Bull. soc. chim. France*, **1932**, *51*, 622.  
c) E.F. Cornell, *J. Am. Chem. Soc.*, **1928**, *50*, 3311.
- [45] E. Baumann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1873**, *6*, 1371.
- [46] J.S. Blair, J.M. Braham, *Ind. Eng. Chem.*, **1924**, *16(8)*, 848.
- [47] J.S. Blair, *J. Am. Chem. Soc.*, **1926**, *48*, 87.
- [48] A. Strecker, *Ann.*, **1850**, *75*, 27.
- [49] A.H. Cook, S.F. Fox, *J. Chem. Soc.*, **1949**, 3479.
- [50] a) R. Pascal, J. Taillades, A. Commeyras, *Bull. Soc. Chim. France*,  
**1978**, II-177.  
b) R. Pascal, J. Taillades, A. Commeyras, *Tetrahedron*, **1978**, *34*, 2275
- [51] A.C. Davis, A.L. Levy, *J. Chem. Soc.*, **1951**, 3479.
- [52] J.T. Edward, F.L. Chubb, *Proc. R. Ir. Acad.*, **1983**, *83*, 57-64.
- [53] J.E. Baldwin, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1976**, 734.
- [54] W.C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2923.
- [55] M. Conrad, A. Schulze, *Ber.*, **1909**, *42*, 735.
- [56] F.I. Logeman, G. Shaw, *Chem. Ind.*, **1980**, 541.
- [57] J.P. Ferris, J.E. Kuder, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 2527.
- [58] J. Oró, A.P. Kimball, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1962**, *96*, 293.
- [59] W. Shaw, *J. Biol. Chem.*, **1950**, *185*, 439.
- [60] L.H. Smith Jr., P. Yates, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, *76*, 6080.
- [61] E.C. Taylor, H.M. Loux, E.A. Falco, G.H. Hitchings, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 2243.
- [62] W. Traube, *Chem. Ber.*, **1904**, *37*, 4546.
- [63] J.P. Ferris, L.E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 3829.
- [64] J. Davoll, D.D. Evans, *J. Chem. Soc.*, **1958**, 2622.
- [65] Y. Song, Interner Arbeitsbericht ETH, Zürich **1990**.
- [66] G.M. Blackburn, A.W. Johnson, *J. Chem. Soc.*, **1960**, 4358.
- [67] A.W. Czarnik, N.J. Leonard, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 2624.
- [68] K.W. Buck, *Carbohydr. Res.*, **1968**, *6*, 247.
- [69] H. Zinner, *Chem. Ber.*, **1953**, *86*, 817.
- [70] H. Zinner, *Chem. Ber.*, **1950**, *83*, 418.

- [71] E.J. Corey, B.W. Erickson, *J. Org. Chem.*, **1971**, *36*, 3553.
- [72] a) G. Schramm, H. Grötsch, W. Pollmann, *Angew. Chemie*, **1962**, *74*, 53.  
b) W. Pollmann, G. Schramm, *Biochim. Biophys. Acta*, **1964**, *80*, 1.  
c) K. Onodera, S. Hirano, H. Fukumi, *Agr. Biol. Chem.*, **1964**, *28*, 173.  
d) G. Schramm, G. Lünzmann, F. Bechmann, *Biochim. Biophys. Acta*, **1967**, *154*, 221.
- [73] a) A.S. Jones, A.M. Mian, R.T. Walker, *J. Chem. Soc. (C)*, **1966**, 692.  
b) M.P. Gordon, V.S. Weliky, G.B. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 3245.
- [74] N.J. Duker, T.L. Chao, E.M. Resnick, *Chem.-Biol. Interactions*, **1986**, *58*, 241.
- [75] J.J. Pfiffner et al., *Science*, **1943**, *97*, 404 und *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, *69*, 1476.  
E.L.R. Stokstad et al., *J. Biol. Chem.*, **1943**, *149*, 573.
- [76] E.L.R. Stokstad et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**, *70*, 5 und *ibid.* **1948**, *70*, 14.
- [77] D.W. Young, *Natural Product Reports*, **1986**, 395.
- [78] C.M. Baugh, E. Shaw, *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 3610.
- [79] A. Kittaka, Research Report ETH, Zürich, **1989**.
- [80] a) M. Amadori, *Atti Real. Acad. Naz. Lincei*, **1925**, *2*, 337 und *ibid.*, **1929**, *9*, 68 und *ibid.*, **1929**, *9*, 226.  
b) R. Kuhn, F. Weygand, *Ber.*, **1937**, *70*, 769.  
Reviews: c) J.E. Hodge, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1955**, *10*, 169.  
d) H. Paulsen, K.W. Pflugshaupt, *Glucosylamines in The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry*, 2nd Edition, Vol 1b, Edited by W. Pigman, D. Horton, Academic Press, New York, **1980**.  
e) H. Simon, A. Kraus, *Fortschr. Chem. Forsch.*, **1970**, *14*, 430.  
f) R.U. Lemieux in *Molecular Rearrangements*, Vol 2, Editor P. de Mayo, Wiley, New York, **1964**.
- [81] H. Wood, *J. Chem. Soc.*, **1960**, 4768.
- [82] W.D. Fuller, R.A. Sanchez, L.E. Orgel, *J. Mol. Biol.*, **1972**, *67*, 25.
- [83] a) R. Fischer, Dissertation ETH in Vorbereitung, Zürich, **1992**.  
a) A. Helg, Dissertation ETH in Vorbereitung, Zürich, **1993**.  
a) F. Giger, Dissertation ETH in Vorbereitung, Zürich, **1992**.
- [84] R.A. Sanchez, L.E. Orgel, *J. Mol. Biol.*, **1970**, *47*, 531.
- [85] a) A. Eschenmoser, *Nachr. Chem. Tech. Lab.*, **1991**, *39*, Nr.7/8, 795.  
b) A. Eschenmoser, *Nova Acta Leopoldina*, **1992**, NF 67, Nr. 281, 201



- (slightly extended english version: A. Eschenmoser, E. Loewenthal, *Chem. Soc. Rev.*, **1992**, 1.
- c) A. Eschenmoser, M. Dobler, *Helv. Chim. Acta*, **1992**, 75, 218.
- [86] A. Alanine, Research Report ETH, Zürich, **1991**.
- [87] J.D. Watson, F.H.C. Crick, *Nature*, **1953**, 171, 737.
- [88] a) J. Patcher, J. Weinstock, U.S. Patent, **1964**, 3,127,402 (CA **1964**, 60, 14524.
- b) G.B. Elion, G.H. Hitchings, P.B. Russell, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 78
- c) E.C. Taylor, R.F. Abdulla, K. Takanaka, P.A. Jacobi, *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, 2341.
- [89] W. Fraser, Research Report ETH, Zürich, **1991**.
- [90] N.J. Turro , *Modern Molecular Photochemistry*, p.386, The Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc., Menlo Park, CA, **1978**.
- [91] G.W. Watt, G.R. McBride, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 2751.
- [92] K.E. Andersen, E.B. Pedersen, *Liebigs Ann. Chem.*, **1986**, 1012.
- [93] St. Pitsch, unveröffentlichte Arbeiten ETH, Zürich, **1991**.
- [94] G. Konrad, W. Pfeleiderer, *Chem. Ber.*, **1970**, 103, 722.

## Lebenslauf

Ich wurde am 19. Mai 1964 als viertes von sechs Kindern in Beinwil/Freiamt, Kt. Aargau geboren als Sohn des Koch, Walter und der Maria, geb. Ammann. Meine Eltern bewirtschafteten dort auf dem Lindenberg den Grodhof.

Die Primarschulen besuchte ich 1971 bis 1977 in Beinwil/Freiamt und Rothenburg, Kt. Luzern, danach von 1977 bis 1984 die Kantonsschule Reussbühl, Kt. Luzern, welche ich 1984 mit der Matura Typus C abschloss. Im Herbst desselben Jahres nahm ich an der Universität Lausanne das Chemiestudium auf. Die ersten zwei Vordiplomprüfungen absolvierte ich 1985 und 1986 mit der Louis-Pelet-Auszeichnung der Faculté des sciences. Im Herbst 1988 schloss ich das Studium mit den Diplomprüfungen und einer Diplomarbeit in metallorganischer Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. M. Schlosser ab. Zu Beginn des Jahres 1989 begann ich an der ETH Zürich unter der Leitung von Prof. Dr. A. Eschenmoser die vorliegende Promotionsarbeit. Seit 1989 bin ich als Assistent in einem Praktikum für allgemeine und anorganische Chemie tätig.

1989 feierten Luzia, geb. Thürig und ich unsere Hochzeit. Zu uns gehören Felizia, geb. 1989 und Julian, geb. 1991.

Zürich, im November 1992

Klemens Koch