

**Sur la Formation des *s*-Triazines par Action de Biguanides sur  
l' Ethoxyméthylène Acétoacétate d'Ethyle ou sur  
l'Ethoxyméthylène Malonate d'Ethyle**

KANAME TAKAGI et TAKEO UEDA

Faculté de Pharmacie, Université Kitasato<sup>1)</sup>

(Reçu le 24 Octobre, 1968)

Il est bien établi que les homologues d'amidines, telles que l'acétamidine,<sup>2)</sup> la guanidine,<sup>3)</sup> la thiourée<sup>4)</sup> et l'urée<sup>5)</sup> se condensent sur l'éthoxyméthylène acétoacétate d'éthyle (I), en fournissant des dérivés (II) de la méthyl-4 pyrimidine carboxylate-5 d'éthyle (Schéma 1).

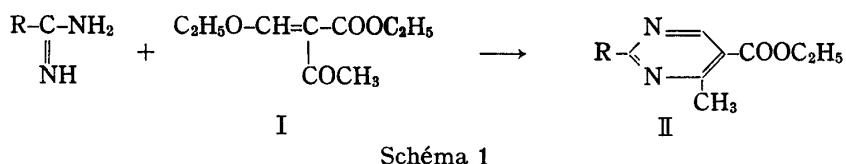


Schéma 1

Par analogie, nous avons pensé qu'une condensation selon un processus réactionnel comparable à celui figurant au Schéma 1, pourrait être réalisée entre les biguanides et I, et conduirait à la formation des dérivés (II') de la guanidino-2 méthyl-4 pyrimidine carboxylate-5 d'éthyle. Contrairement à notre attente, nous n'avons pu, au cours de nos essais, mettre en évidence la formation de composés pyrimidiniques II', mais celle de dérivés de la diamino-2, 4 *s*-triazine de formule III (Schéma 2).

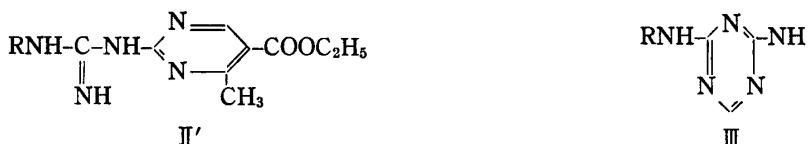


Schéma 2

Les réactions ont été effectuées dans l'alcool anhydre, par chauffage à ébullition pendant deux heures, de quantités proportionnelles à une mole de biguanide substituée en position 1 et une mole de I. Les biguanides employées dans ces condensations sont les suivantes: phényl-1 biguanide (IVa), *p*-méthylphényl-1 biguanide (IVb), *p*-methoxyphényl-1 biguanide (IVc), *p*-chlorophényl-1 biguanide (IVd), diméthyl-1,1 biguanide (IVe) et N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-anhydro bis(*β*-hydroxyéthyl) biguanide (IVf).

Les structures des produits isolés ont été établies à partir des spectres infrarouge, des spectres de masse et des résultats de l'analyse élémentaire. Les spectres infrarouge des produits obtenus ne présentent pas la bande vers 1720 cm<sup>-1</sup>, caractéristique de la fonction ester carboxylique<sup>6)</sup> des dérivés pyrimidiniques du type II', mais présentent par contre des bandes intenses vers 3400 cm<sup>-1</sup> et 1660 cm<sup>-1</sup> attribuables aux vibrations de valences N-H et C=N.

1) Situation: Shiba-Shirogane Sankochō, Minato-ku, Tokyo.

2) R. Urban et O. Schmider, *Helv. Chim. Acta*, **41**, 1068 (1958).

3) Y. Morimoto, *Yakugaku Zasshi*, **73**, 648 (1953); T. Tsuda et Y. Ogawa, *Yakugaku Zasshi*, **70**, 73 (1950).

4) R.H. Baker et A.H. Schlesinger, *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 1652 (1948).

5) R.H. Baker et A.H. Schlesinger, *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 2009 (1946).

6) En effet, les méthyl-4 pyrimidines carboxylates-5 d'éthyles substituées en 2 par les groupements méthyle, amino, mercapto etc. présentent une très belle bande à 1720 cm<sup>-1</sup> caractéristique du C=O de l'ester carboxylique.

Par ailleurs les données de l'étude des spectres de masse<sup>7)</sup> (pics moléculaires  $M^+$ ) et de l'analyse élémentaire (voir Tableau I) de ces produits correspondent bien aux valeurs calculées pour les dérivés IIIa—f de la s-triazine.

Cependant pour confirmer la structure de ces composés IIIa—f, nous avons réalisé leur synthèse univoque, selon la méthode d'Overberger,<sup>8)</sup> par condensation des biguanides IVa—f sur le formiate d'éthyle (voir Schéma 3, voie 1). Les spectres infrarouge de ces échantillons considérés comme référence, sont superposables à ceux des produits correspondants préparés à partir des biguanides IVa—f et de I. De plus, ces derniers n'ont pas montré d'abaissement de leur point de fusion par mélange avec les échantillons de références.

Les produits obtenus par action de biguanides sur I sont donc bien des dérivés de la s-triazine, et non pas des dérivés pyrimidiniques. La formation des s-triazines à partir de biguanides et de I implique que les biguanides ne réagissent, dans les conditions utilisées, qu'avec le groupement éthoxyméthylène de I, c'est-à-dire que les fonctions acétyle et carbo-éthoxyle de I ne prennent pas part aux réactions (voir Schéma 3, voie 2). Ceci apparaît clairement dans le cas de la condensation de IVf sur I, où la présence dans le milieu réactionnel d'acétoacétate d'éthyle a pu être démontrée à côté de celle de la s-triazine IIIf; nous avons caractérisé cet acétoacétate d'éthyle formé, en comparant son spectre infrarouge avec celui de l'échantillon de référence.

Dans le cas particulier de la condensation de IVa sur I, on peut isoler de façon parfaitement reproductible, à côté de IIIa, une petite quantité d'un composé défini, fondant à 168°, dont l'analyse correspond à celle d'un dérivé  $C_{16}H_{17}O_3N_5$ , mais dont nous n'avons pas encore réussi à élucider la structure.

On sait que l'éthoxyméthylène malonate d'éthyle (V) donne par action sur les amidines,<sup>9,10)</sup> la guanidine,<sup>11)</sup> la thiourée,<sup>12)</sup> et la S-méthylthiourée,<sup>9,13)</sup> des hydroxy-4 pyrimidines carboxylates-5 d'éthyles substituées en 2. Si l'on considère donc, d'une part, le mécanisme de formation des s-triazines à partir de biguanides et de I, et, d'autre part, l'analogie de structure entre

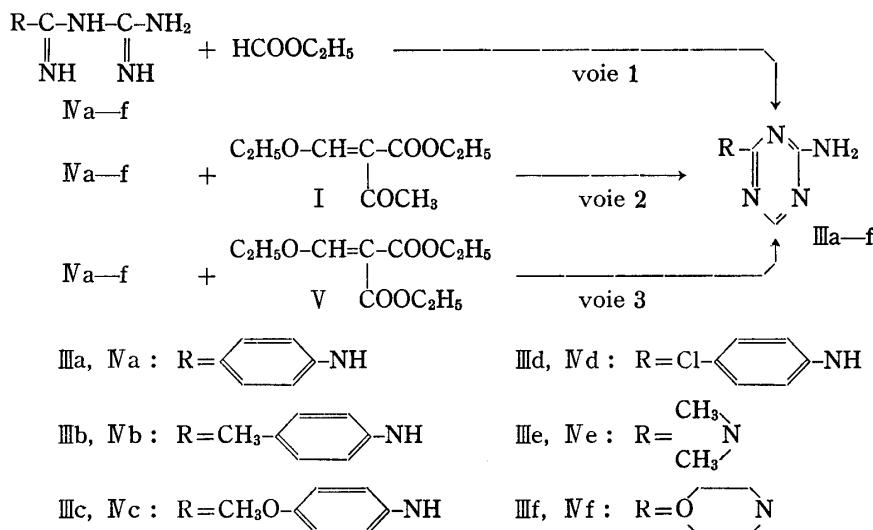


Schéma 3

7) Les spectres de masse ont été enregistrés avec un appareil JEOL JMS-OIS, sur des échantillons directement vaporisés dans la chambre d'ionisation.

8) C.G. Overberger et S.L. Shapiro, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 93 (1954).

9) E. Peters, H.J. Minnemeyer et A.W. Spears, *J. Org. Chem.*, **25**, 2137 (1960).

10) T.A. Geissman, M.J. Schlatter et I.D. Roberts, *J. Org. Chem.*, **11**, 741 (1946).

11) F. Sorm, J. Hlavnicka et A. Simek, *Chem. Listy*, **45**, 422 (1951) [C.A. **46**, 4117 (1952)].

12) E. Ballard et J.B. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 794 (1942).

13) C.W. Todd, J.H. Fletcher et D.S. Tarbell, *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 350 (1943).

I et V, on devrait s'attendre à ce que les biguanides et V réagissent également en donnant des s-triazines du type III au lieu des dérivés pyrimidiniques.

C'est ce que nous avons pu montrer, en obtenant, à partir des biguanides IVa-f et de V, les mêmes s-triazines IIIa-f isolées précédemment lors de la réaction des IVa-f sur I. Ces nouvelles réactions ont été effectuées dans des conditions analogues aux précédentes et correspondent à la voie 3 du Schéma 3. Ces s-triazines ainsi obtenues par une troisième voie ont pu être identifiées, avec certitude, par observation de point de fusion de leurs mélanges avec les échantillons de références, et par études de leurs spectres infrarouge.

Le point de fusion, l'analyse et le rendement réactionnel correspondants aux diverses s-triazines obtenues au cours de notre étude figurent sur le Tableau I.

TABLEAU I. Dérivés de la diamino-2,4 s-triazine

Composé	R	F (°C)	Rdt (%)			Formule	Analyse (%)			
			a)	b)	c)		C	H	N	
IIIa		225-226	61	70	70	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N <sub>5</sub>	Calc.	57.75	4.85	37.41
							Tr.	57.71	4.81	37.33
IIIb		222	62	55	60	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>	Calc.	59.68	5.51	34.81
							Tr.	59.51	5.47	34.99
IIIc		240-241	46	45	46	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ON <sub>5</sub>	Calc.	55.29	5.11	32.24
							Tr.	55.18	4.98	32.18
IIId		252-253	54	61	57	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N <sub>5</sub> Cl	Calc.	48.77	3.67	31.60
							Tr.	49.17	3.56	31.56
IIIf		185-186	32	36	54	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> ON <sub>5</sub>	Calc.	43.15	6.52	50.33
							Tr.	43.17	6.30	50.21
							Tr.	46.40	6.12	38.68
							Tr.	46.29	6.04	38.61

a) à partir des IV-f et de I

b) à partir des IVa-f et de V

c) à partir des IVa-f et du formiate d'éthyle

### Partie Experimentale

**Action de IVa sur I**—A une solution alcoolique d'éthoxyde de sodium (préparée à partir de 0.5 g 0.02 atomes) de Na et de 30 ml d'EtOH anhydre), on ajoute 5 g (0.024 moles) de chlorhydrate de IVa, puis 3.7 g (0.02 moles) de I. On chauffe au reflux pendant 2 hr, évapore le solvant, ajoute de l'eau et acidifie par HCl. On extrait au C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>. La couche benzénique, séchée sur SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>, donne après élimination du solvant un composé non identifié qui peut être cristallisé de l'EtOH. F 168-169°. Rdt: 0.2 g. Anal. Calc. C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>: C, 58.71; H, 5.23; N, 21.39. Tr. C, 59.01; H, 5.21; N, 21.59. Spectre de masse m/e: 327,1323 (M<sup>+</sup>) (m/e: Calc. pour C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>, 327,1331). La couche aqueuse restant après l'extraction au C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> est alcalinisée par de la soude diluée, à température ne dépassant pas 10°. On obtient ainsi un précipité que l'on filtre, lave à l'eau, sèche et qui par cristallisation dans un mélange d'EtOH et de dioxane donne l'amino-2 anilio-4 s-triazine IIIa. Par concentration sous pression réduite du solvant de cristallisation, on obtient encore une petite quantité de IIIa. Aucune trace de dérivé pyrimidinique n'a pu être détectée ni dans le filtrat aqueux, ni dans le mélange de cristallisation. IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 3500 et 1650. Spectre de masse m/e: 187 (M<sup>+</sup>).

**Action de IVb-e sur I**—En opérant de la même façon que celle utilisée lors de l'action de IVa sur I, on obtient les s-triazines IIIb-e. IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: IIIb, 3350 et 1670; IIIc, 3450 et 1665; IIId, 3500 et 1660; IIIf, 3350 et 1660. Spectre de masse m/e: IIIb, 201 (M<sup>+</sup>); IIIc, 217 (M<sup>+</sup>); IIId, 221 (M<sup>+</sup>); IIIf, 139 (M<sup>+</sup>).

**Action de IVf sur I**—A une solution alcoolique d'éthoxyde de sodium (préparée à partir de 1.2 g de Na et de 60 ml d'EtOH anhydre), on ajoute 12 g de chlorhydrate de IVf, puis 9.3 g de I. On chauffe au reflux pendant 2 hr, évapore le solvant, ajoute de l'eau et acidifie par HCl. On extrait au C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>. On séche la couche benzénique sur SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>, élimine le solvant et distille sous pression réduite. On obtient ainsi 1.2 g (soit 18.5%) d'acétoacétate d'éthyle. Eb: 81-83° (21 mmHg) (identifié par son spectre IR). La couche

aqueuse restant après l'extraction au  $C_6H_6$  est traitée selon la technique indiquée ci-dessus pour l'obtention de IIIa. Le précipité obtenu à l'issu du traitement cristallise de l'EtOH en donnant 4.5 g d'amino-2 morpholino-4 s-triazine IIIf. IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$ : 3400 et 1650. Spectre de masse  $m/e$  181 ( $M^+$ ).

**Action de IVa-f sur V**—Les condensations ont été effectuées de façon analogue à celle utilisée lors de l'action de IVa sur I, à partir de 0.5 g (0.02 atomes) de Na, 0.024 moles de chlorhydrate de IVa-f et 3.7 g (0.02 moles) de V dans 30 ml d'EtOH anhydre. On obtient ainsi les s-triazines IIIa-f.

**Synthèse des IIIa-f à Partir des IVa-f et du Formiate d'Ethyle**—On abandonne à température ambiante pendant 15 hr, un mélange de 0.5 g (0.02 atomes) de Na, 0.02 moles de chlorhydrate de IVa-f et de 1.6 g (0.02 moles) de formiate d'éthyle dans 30 ml d'EtOH anhydre, puis chauffe à ébullition pendant une demie heure. Le mélange réactionnel est ensuite concentré sous pression réduite et dilué par addition d'eau. Il apparaît alors un précipité que l'on essore et qui cristallise d'un mélange d'EtOH et de dioxane (IIIe et IIIf cristallise de l'EtOH).

[Chem. Pharm. Bull.  
17(5)1064-1071(1969)]

UDC 547.483.09 : 591.1 : 599.05

**Studies on the Glucaric Acid Pathway in the Metabolism of D-Glucuronic Acid in Mammals. II.<sup>1)</sup> Excretion of D-Glucaric Acid in Urine after Administration of Several Monosaccharides and Their Derivatives to Mammals<sup>2)</sup>**

MICHIO MATSUI, MASASHI OKADA,<sup>3)</sup>  
and MORIZO ISHIDATE<sup>3a)</sup>

*Tokyo Biochemical Research Institute<sup>3)</sup>*

(Received November 11, 1968)

D-Glucaric acid (V) was identified as normal constituent of human urine<sup>4)</sup> and a new oxidative metabolic pathway of D-glucuronolactone (I) to V in mammalian systems was demonstrated by Marsh.<sup>5,6,7)</sup> The tentative reaction mechanism involved in the conversion of I into V is indicated briefly in Chart 1. The physiological significance of this new metabolic pathway of I may lie in the production of an endogenous  $\beta$ -glucuronidase inhibitor, because if D-glucaro-(1 $\rightarrow$ 4)-lactone (III) were present, which is known to be the most powerful inhibitor of the enzyme,<sup>8)</sup> it could play an important role in controlling glucuronide hydrolysis *in vivo*, although no conclusive evidence for this is yet available.

For accurate determination of V in urine a chemical method has been developed recently in this laboratory<sup>1)</sup> in place of the enzymic assay worked out by Marsh.<sup>4)</sup> This paper describes the determination of urinary excretion of V in man, rat and guinea pig by using the chemical method after administration of several monosaccharides and their derivatives. The primary purpose of the present work is to find out the compound(s), whose oral administration to man could bring about the more increased urinary excretion of V compared with I.

- 1) Part I: M. Ishidate, M. Matsui, and M. Okada, *Anal. Biochem.*, **11**, 176 (1965).
- 2) Part of this work was presented at the 84th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Tokyo, April 1964.
- 3) Location: *Takada 3-chome, Toshima-ku, Tokyo*; a) Present address: *National Institute of Hygienic Sciences, Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo*.
- 4) C.A. Marsh, *Biochem. J.*, **86**, 77 (1963).
- 5) C.A. Marsh, *Biochem. J.*, **87**, 82 (1963).
- 6) C.A. Marsh, *Biochem. J.*, **89**, 108 (1963).
- 7) C.A. Marsh, *Biochem. J.*, **99**, 22 (1966).
- 8) G.A. Levvy, *Biochem. J.*, **52**, 464 (1952).