

CHEMISCHE BERICHTE

Fortsetzung der

BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

86. Jahrg. Nr. 11

S. 1389 – 1476

229. Friedrich Weygand, Hans Grisebach und Helmut Simon:
Eine Verbesserung der Synthese von Pteroyl-*l*-glutaminsäure-[2-¹⁴C]

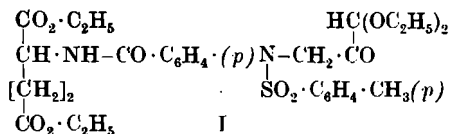
[Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg]

(Eingegangen am 19. August 1953)

Eine von D. I. Weisblat und Mitarbb. angegebene Synthese von Pteroyl-*l*-glutaminsäure eignet sich gut zur Gewinnung der in 2-Stellung mit ¹⁴C markierten Verbindung.

Bei der früher mitgeteilten Synthese von Pteroyl-*l*-glutaminsäure-[2-¹⁴C] betrug die Ausbeute an krist. Verbindung nur 3.3% d.Th., ber. auf 2.4.5-Triamino-6-oxy-pyrimidin-[2-¹⁴C]-sulfat¹⁾. Inzwischen wurde uns eine neuartige Synthese der Pteroyl-*l*-glutaminsäure bekannt²⁾, und wir haben geprüft, ob diese besser zur Gewinnung der mit ¹⁴C in der 2-Stellung markierten Verbindung geeignet ist als die älteren Synthesen.

Bei der neuen Synthese wird 2.4.5-Triamino-6-oxy-pyrimidin zunächst mit *N*-[*N'*-(*p*-Toluolsulfonyl-2-keto-3.3-diäthoxy-propyl)-*p*-aminobenzoyl]-*l*-glutaminsäure-diäthylester³⁾ (I) in Eisessig kondensiert, worauf der *p*-Toluolsulfo-Rest mit Bromwasserstoff in Eisessig unter Zusatz von Phenol abgespalten und schließlich der Diäthylester verseift wird. Die Pteroyl-*l*-glutaminsäure fällt hierbei in viel höherer Ausbeute und in reinerer Form an als bei den älteren Synthesen. Die Isolierung in krist. Form bereitet keinerlei Schwierigkeiten und die angegebene papierchromatographische Reinigung¹⁾ ist unnötig. Die Ausbeute an umkrist. Verbindung beträgt im 5-mMol-Maßstab etwa 18% d.Th., bezogen auf 2.4.5-Triamino-6-oxy-pyrimidin-[2-¹⁴C]-sulfat.



Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir bestens für die Gewährung eines Stipendiums an einen von uns (H. G.), und dem Fonds der Chemie für Unterstützung.

¹⁾ F. Weygand, H.-J. Mann u. H. Simon, Chem. Ber. 85, 463 [1952].

²⁾ D. I. Weisblat, B. J. Magerlein, D. R. Myers, A. R. Hanze, I. F. Mundell u. S. T. Rolfsen, Abstracts of Papers, XIIth International Congress of Pure and Applied Chemistry, S. 76 [1951].

³⁾ Wir danken Herrn Dr. B. J. Magerlein von der Upjohn Company, Kalamazoo, Mich., U.S.A., bestens für die Überlassung dieser Verbindung.

Beschreibung der Versuche

Pteroyl-*l*-glutaminsäure-[2-¹⁴C]: 1.576 g Ba¹⁴CO₃ (Aktivität 10 mC nach den Angaben von AERE., Harwell, England) wurden in bekannter Weise (vergl.¹⁾) in 2.4.5-Triamino-6-oxy-pyrimidin-[2-¹⁴C]-sulfat übergeführt⁴). Die erhaltenen 1.1 g (55% d.Th.) wurden zunächst in das Hydrochlorid verwandelt; sie wurden in 50 ccm heißem Wasser gelöst und mit der Lösung von 1.08 g BaCl₂·2H₂O in 10 ccm heißem Wasser versetzt. Nach Abfiltrieren und Waschen des ausgefallenen Bariumsulfates wurde das Filtrat i. Vak. zur Trockne eingedampft.

Nun fügte man 0.77 g wasserfreies Natriumacetat und die Lösung von 2.94 g *N*·[*N'*-(*p*-Toluolsulfonyl-2-keto-3.3-diäthoxypropyl)-*p*-aminobenzoyl]-*l*-glutaminsäure-diäthylester (I) in 27 ccm Eisessig hinzu und rührte zunächst 45 Min. im Dunkeln unter N₂ bei Zimmertemperatur. Sodann wurde noch 2 Stdn. zum Sieden erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wurde zur Abspaltung des *p*-Toluolsulfosäure-Restes der Rückstand unter kräftigem Schütteln in 17 ccm mit Bromwasserstoff gesättigtem Eisessig, dem 0.85 g Phenol zugesetzt waren, suspendiert. Nach 2stdg. Stehenlassen bei etwa 20° wurde in 100 ccm wasserfreien Äther eingegossen. Den ausgefallenen rotbraunen Niederschlag saugte man schnell auf einer Glasfritte ab und wusch ihn mehrmals mit wasserfreiem Äther. Er wurde sogleich in wenig Methanol gelöst, worauf man 20 ccm 10-proz. Natronlauge zufügte und zur Verseifung der Estergruppen über Nacht stehenließ. Die Lösung wurde in 100 ccm Wasser gegossen und mit konz. Salzsäure auf *p*_H 7 gebracht, worauf nach Zugabe von 20 ccm Eisessig die rohe Pteroyl-*l*-glutaminsäure-[2-¹⁴C] gelatinös ausfiel. Sie wurde abzentrifugiert und 2 mal mit Wasser und mit Aceton gewaschen.

Zur Reinigung wurde die gesamte Menge in 1 l kochendem Wasser gelöst; vom braunen Rückstand wurde abfiltriert und das Filtrat mit 2 *n* NaOH neutralisiert. Man fügte 5 g krist. Natriumacetat und 5 g Bleicherde Frankonit KL hinzu, erhitze und filtrierte. Dem Filtrat fügte man die dem Natriumacetat äquivalente Menge verd. Salzsäure und noch einige ccm Eisessig zu. Nach mehrstündigem Stehenlassen, zuletzt unter Eiskühlung, wurde die Säure abgesaugt, worauf die vorstehend beschriebene Reinigungsoperation wiederholt wurde. Beim Abkühlen wurde mit einer Spur krist., inaktiver Pteroyl-*l*-glutaminsäure angeimpft. Die so erhaltene krist. Säure wurde in 50 ccm sied. Wasser unter Zusatz von 10 g krist. Natriumacetat gelöst. Nach Versetzen mit 5 g Frankonit KL wurde heiß filtriert und mit einer Lösung von 2 g Natriumacetat in 200 ccm heißem Wasser nachgewaschen. Zu den vereinigten Filtraten wurde wieder die dem Natriumacetat äquivalente Menge verd. Salzsäure und etwas Eisessig gegeben. Die beim langsamen Abkühlen erhaltene schön krist. Pteroyl-*l*-glutaminsäure-[2-¹⁴C] war nach dem mikrobiol. Test rein. Ausb. etwa 400 mg (18% d.Th., bezogen auf 2.4.5-Triamino-6-oxy-pyrimidin-[2-¹⁴C]-sulfat). Bei Versuchen mit inaktivem Material in größerem Maßstab war die Ausbeute höher.

Die Aktivität in „unendlich dünner Schicht“ mit Fensterzählrohr (1.8 mg/cm²) betrug 179000 Imp./min/mg, mit „flow counter“ 1600000 Imp./min/mg.

⁴⁾ Dabei wurde, um zum Bariumcyanamid-[¹⁴C] zu gelangen, in 4 Ansätzen gearbeitet.