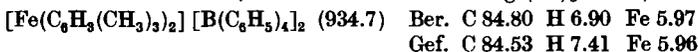
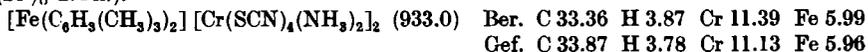


spült. Dann beschickt man den Kolben mit 3 g (0.025 Mol) wasserfreiem, fein pulverisiertem AlCl_3 , 3 g (0.014 Mol) wasserfreiem FeBr_2 und 40 ccm destilliertem, über Na getrocknetem Mesitylen. Man erhitzt unter Rühren und allmählicher Steigerung der Temperatur. Bei etwa 60° bilden sich weiße Nebel. Man hält dann unter Stickstoff 4 Stdn. auf $80-90^\circ$. Anschließend wird nach dem Abkühlen mit 10 ccm Methanol und daraufhin mit 150 ccm Wasser unter Eiskühlung zersetzt.

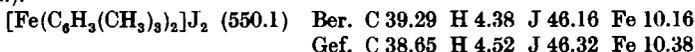
Die rotorange Lösung wird in einen Scheidetrichter übergeführt, von der organischen Schicht abgetrennt, filtriert und zweimal mit je 50 ccm Petroläther ausgeschüttelt. Nach Zugabe einer Lösung von 5 g $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$ in 100 ccm H_2O fällt daraus ein rotbrauner, voluminöser Niederschlag. Er wird rasch abgesaugt und in 150 ccm Aceton gelöst. Bei Zusatz von Wasser fällt das Produkt kristallin wieder aus. Man saugt es erneut ab, wäscht dreimal mit je 30 ccm Wasser und anschließend ebensooft mit je 30 ccm Äther, löst abermals in Aceton, fällt jedoch diesmal mit Äther wieder aus und trocknet im Hochvakuum. Man erhält schöne, rotorange Nadeln. Für das Gelingen ist eine rasche Arbeitsweise, vor allem beim Filtrieren, wesentlich. Ausb.: ~ 6.6 g (30% d.Th.).



2. Di-mesitylen-eisen(II)-di-reineckeat: Man bereitet sich wie zuvor eine wässrige gereinigte Lösung des komplexen Kations und fällt diesmal mit einer gesättigten Lösung von 5 g $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{NH}_3)_2]$ ein rotbraunes feinkristallines Produkt. Es wird abgesaugt, in Aceton gelöst und mit Wasser erneut ausgefällt. Zur Reinigung wird nach dem Trocknen nochmals in Aceton gelöst und mit Äther wieder ausgefällt. Ausb. 6 g (28% d.Th.).



3. Di-mesitylen-eisen(II)-di-jodid: Die wieder wie unter 1., jedoch nur mit 80 ccm Wasser bereitete gereinigte, wässrige Lösung des komplexen Kations wird mit 2 g Natriumacetat abgepuffert und nach Zusatz von 2 g Hydrazinsulfat unter Stickstoff mit überschüss. konz. KJ-Lösung versetzt; der alsbald ausfallende leuchtend rote Niederschlag wird unter Luftausschluß abfiltriert, zweimal mit je 10 ccm Wasser und anschließend dreimal mit je 10 ccm Aceton gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Ausb. ~ 1.3 g (9% d.Th.).



340. Friedhelm Korte und Hans Barkemeyer: Heterocyclen im Stoffwechsel I. Die Synthese von markierten Purinen [5- ^{14}C] und Pteridinen-[4a- ^{14}C]

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn]
(Eingegangen am 5. Juli 1956)

Es werden Mikrosynthesen für 5- ^{14}C -markierte Purine und 4a- ^{14}C -markierte Pteridine mit einer spezif. Aktivität von 1.5 mC/mMol beschrieben. Die Ausbeuten sind an analysenreinem Produkt: 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin 71%, Xanthopterin 85%, Isoxanthopterin-carbonsäure 95%, Guanin 97% und Xanthin 95%. Xanthopterin wird kristallin erhalten.

Zum vergleichenden Studium der Umwandlung von Heterocyclen in verschiedenen Organismen benötigen wir markierte Purine-[5- ^{14}C] und Pteridine-[4a- ^{14}C]. Dabei interessierten uns zunächst die Beziehungen zwischen Purinen,

Flavinen und Pteridinen. Die Reaktion zwischen Xanthin und Threonin zu Flavinen ist in *Eremothecium ashbyi*¹⁾ nachgewiesen, die Umwandlung von Purinen in Pteridine ist u. a. auf Grund ihrer ähnlichen Biosynthese zu erwarten²⁾. Kürzlich beschrieben L. Ziegler-Günder, H. Simon und A. Wacker³⁾ Versuche zum Nachweis der Umwandlung von Guanin in Pteridine an Amphibien, konnten aber nur eine geringfügige Reaktion nachweisen.

Da bei Purinen die C-Atome in 2- und 8-Stellung ausgetauscht werden können^{4,5)}, benutzten wir zum Studium der Umwandlung Verbindungen, die an der Verknüpfungsstelle der beiden Ringe markiert sind. Wir synthetisierten Xanthopterin-[4a-¹⁴C], Isoxanthopterin-carbonsäure-[4a-¹⁴C], Guanin-[5-¹⁴C]⁶⁾ und Xanthin-[5-¹⁴C]⁷⁾; spezif. Aktivität 1.5 mC/mMol.

Als Ausgangsmaterial diente das 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-[5-¹⁴C] in Form seines Sulfats. Wir stellten es nach W. Traube⁸⁾ dar. Die Reduktion der Nitrosogruppe führten wir nicht mit NH₄HS oder Na₂S₂O₄⁹⁾, sondern mit Eisenpulver in 2*n* HCl durch. Die Ausbeuten wurden so besser und gleichmäßiger (70–71 % statt 57–62 %¹⁰⁾).

Die Synthese des Xanthopterins nach F. Korte¹¹⁾ konnte verbessert werden (Ausb. 81–85 % statt 71 %¹¹⁾ bzw. 24 %¹²⁾). Im Gegensatz zu früheren Angaben^{11,13)} läßt es sich durch 8stdg. Erhitzen auf 130° im Hochvakuum über P₂O₅ nicht entwässern. Dieser Befund ergab sich aus Analyse und spektroskopischer Untersuchung im UV. Bezugssubstanz bei den UV-Messungen war das krist. Hydrochlorid des Xanthopterins¹⁴⁾.

Stellt man dieses aus der Base mit konz. Salzsäure bei 100° dar¹⁴⁾, so zersetzt sich ein großer Teil des Pteridins. Behandelt man es aber mit konz. Salzsäure bei Zimmertemperatur, so entsteht sofort eine helle Lösung, aus der das Hydrochlorid in farblosen Plättchen ausfällt. Aus diesem Salz läßt sich reproduzierbar und in einfacher Weise das bisher nicht zugängliche krist. Xanthopterin herstellen.

Isoxanthopterin-carbonsäure wurde durch Kondensation von 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Mesoxalester-hydrat in Eisessig dargestellt. Dadurch gelang es, die Bildung von Xanthopterin-carbonsäure nahezu völlig zu verhindern. Geringe Mengen dieser Säure lassen sich restlos durch 2- bis 3-faches Erwärmen des Reaktionsproduktes mit 50-proz. Essigsäure entfernen.

1) T. W. Goodwin u. S. Pendlington, *Biochem. J.* **57**, 631 [1954].

2) F. Weygand u. M. Waldschmidt, *Angew. Chem.* **67**, 328 [1955].

3) *Z. Naturforsch.* **11 b**, 82 [1956].

4) F. Weygand u. O. A. Großkinsky, *Chem. Ber.* **84**, 839 [1951].

5) W. S. McNutt, *J. biol. Chemistry* **210**, 511 [1954].

6) E. L. Bennett, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2422 [1952].

7) F. Weygand, H. Klebe, A. Trebst u. H. Simon, *Z. Naturforsch.* **9 b**, 452 [1954].

8) *Ber. dtsh. chem. Ges.* **33**, 1371 [1900].

9) C. K. Kain, M. I. Malette u. E. C. Taylor jr., *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 1996 [1946].

10) E. L. Bennett, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2420 [1952].

11) *Chem. Ber.* **87**, 1062 [1954].

12) R. M. Anker u. J. W. Boehne, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2431 [1952].

13) R. Purrmann, *Liebigs Ann. Chem.* **548**, 291 [1941].

14) A. G. Anderson jr. u. J. A. Nelson, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 3837 [1949].

Durch UV-Messung ergab sich für die so hergestellte Isoxanthopterincarbon-säure ein Reinheitsgrad von 98–100%; als Bezugssubstanz diente über das Na-Salz gereinigte Isoxanthopterincarbon-säure. Ausbeute 95% (statt ca. 50%¹⁵).

Guanin stellten wir in Analogie zu dem von Bredereck¹⁶) für die Synthese des Xanthins aus 4,5-Diamino-uracil entwickelten Verfahren durch Erhitzen des 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidins in Formamid her¹⁷). Da die Substanz auf Grund der UV-Messung einen Reinheitsgrad von 98% aufwies, konnte auf eine Reinigung über das Sulfat verzichtet werden. Ausbeute 97% (statt 83%¹⁶).

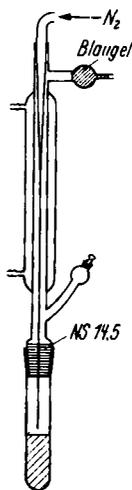
Xanthin wurde nach E. Fischer¹⁸) durch Desaminierung von Guanin mit HNO₂ gewonnen. Die Versuchsbedingungen wurden gegenüber den von Weygand und Mitarbb.⁷) angegebenen variiert, wodurch ein fast farbloses Produkt erhalten wurde. Durch Messung im UV ergab sich ein Reinheitsgrad von 98% (96% bei Weygand und Mitarbb.⁷).

Benutzt man für die beschriebenen Reaktionen Cyanessigester-[3-¹⁴C]¹⁰), so erhält man Purine-[4-¹⁴C] und Pteridine-[8a-¹⁴C].

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Alle Umsetzungen wurden in einem 10-cm-Zentrifugenröhrchen mit Normalschliff (NS 14.5) ausgeführt. Ein Rückflußkühler mit angeschmolzenem Einfüllstutzen und Kapillare (s. Skizze) erwies sich als zweckmäßig.



2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat-monohydrat-[5-¹⁴C]: Das günstigste Mol.-Verhältnis von Cyanessigester, Guanidinnitrat und Na-Methylat ermittelten wir mit 1:1.2:3.7. Durch den Alkaliüberschuß wird die Reaktionszeit verkürzt. Das Guanidinnitrat hat gegenüber dem Carbonat den Vorzug, daß sich bei der Reaktion kein anorganisches Salz ausscheidet.

Das Zentrifugenglas wird mit 47.1 mg Guanidinnitrat beschickt. 32 mg Cyanessigsäure-methylester-[2-¹⁴C], Aktivität 1.5 mC/mMol, werden mit insges. 1.5 ccm absol. Methanol in das Reaktionsgefäß übergeführt und 1 ccm einer Lösung von 275 mg Na in 10 ccm Methanol einpipettiert. Man erhitzt 1.5 Std. am Rückflußkühler (Badtemperatur 75–80°) und leitet während dieser Zeit trockenen Stickstoff durch die Kapillare, die kurz über der Oberfläche der Lösung endet. Das Methanol wird durch den geöffneten Einfüllstutzen abdestilliert (ca. $\frac{2}{3}$ der Gesamtmenge) und die Reaktionsmasse durch Zugabe von 2*n* HCl schwach angesäuert (*p*_H 2–3). Nach dem Abkühlen auf 30° läßt man durch den Einfüllstutzen die Lösung von 30 mg NaNO₂ in 2 ccm Wasser langsam zutropfen; durch Einblasen eines schwachen Stickstoff-Stroms wird eine gute Durchmischung erzielt. Zur Vervollständigung der Reaktion wird kurz auf 80° erwärmt und die rosafarbene Nitrosoverbindung abzentrifugiert. Es wird zweimal mit Wasser gewaschen.

Zur Reduktion gibt man auf die feuchte Nitrosoverbindung 40 mg Eisenpulver und 0.8 ccm 2*n* HCl. Es tritt leichte Erwärmung ein; nach 10 Min. wird weitere 10 Min.

¹⁵) R. Purrmann, Liebigs Ann. Chem. 548, 284 [1941].

¹⁶) H. Bredereck, H.-G. v. Schuh u. A. Martini, Chem. Ber. 88, 209 [1950].

¹⁷) R. K. Robins, K. J. Dille, C. H. Willits u. B. E. Christensen, J. Amer. chem. Soc. 75, 263 [1953].

¹⁸) Liebigs Ann. Chem. 215, 309 [1882].

auf 50° erwärmt und abzentrifugiert. Der Rückstand wird zweimal mit je 0.4 ccm 2*n* HCl bei 50° nachbehandelt. Die vereinigten klaren Lösungen werden mit 0.05 ccm konz. Schwefelsäure versetzt, worauf krist. 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat-monohydrat ausfällt. Nach 2stdg. Stehenlassen bei 0° werden zur Verringerung der Löslichkeit 3 ccm Methanol zugegeben. Nach Aufbewahrung bei 0° über Nacht wird abzentrifugiert, dreimal mit Methanol gewaschen und i. Vak. über H₂SO₄ bei 20° getrocknet. Ausb. 58.5 mg C₄H₇ON₃·H₂SO₄·H₂O (71.5% d. Th.).

Xanthopterin-[4a-¹⁴C]: 25.7 mg 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat-monohydrat-[5-¹⁴C] werden mit 0.014 ccm Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal in 0.5 ccm 80-vol.-proz. H₂SO₄ 4 Min. unter Umschwenken auf 95–100° erhitzt. Nach dem Abkühlen gibt man 2 g Eis hinzu und stellt unter Kühlung durch Zugabe von 5*n* NaOH auf *p*_H 3–5 ein. Dabei fällt das Xanthopterin als gelbes amorphes Produkt aus. Nach 2stdg. Aufbewahren bei 0° wird abzentrifugiert und dreimal mit essigsäurem Wasser gewaschen (*p*_H 3.3). Anschließend wäscht man je dreimal mit Methanol (essigsauer, 2 Tropfen Eisessig auf 15 ccm Methanol), Benzol und Äther. Für jedes Auswaschen werden 3 ccm Flüssigkeit verwendet. Trocknung bei 20° i. Vak. über H₂SO₄. Ausb. 16.0–16.7 mg Xanthopterin-monohydrat (81–85% d. Th.).

λ_{\max} 255 m μ , lg ϵ 4.24; λ_{\max} 392 m μ , lg ϵ 3.82.

C₆H₅O₂N₅·H₂O (197.1) Ber. C 36.55 H 3.58 O 24.35 N 35.52
Gef. C 36.75 H 3.57 O 24.16 N 34.62

Hydrochlorid: 16 mg Xanthopterin-monohydrat werden im Zentrifugenglas mit 1 ccm konz. HCl (*d* 1.18) übergossen. Beim Umschwenken entsteht eine farblose bis hellbraune Lösung, aus der nach einiger Zeit nahezu farbloses Hydrochlorid in Plättchenform ausfällt. Nach einigen Stunden bei 0° fügt man zur Vervollständigung der Fällung das gleiche Volumen Methanol hinzu. Nach weiteren 12 Std. bei 0° wird abzentrifugiert und dreimal mit Methanol gewaschen. Trocknung bei 20° i. Vak. über H₂SO₄. Ausb. 13–14 mg (74–80% d. Th.).

λ_{\max} 255 m μ , lg ϵ 4.24; λ_{\max} 392 m μ , lg ϵ 3.82.

C₆H₅O₂N₅·HCl (215.6) Ber. C 33.45 H 2.81 N 32.50
Gef. C 33.31 H 2.91 N 32.27

Kristallines Xanthopterin-monohydrat: Das Xanthopterin-hydrochlorid wird mit wenig Wasser übergossen und deutlich ammoniakalisch gemacht. Nach kurzer Zeit fällt reines Monohydrat in kleinen, seidenglänzenden Nadeln aus. Durch Zugabe von Essigsäure wird die Fällung vervollständigt. Amorphes Xanthopterin entsteht unter diesen Bedingungen nicht. Ausb. 95% d. Theorie.

λ_{\max} 255 m μ , lg ϵ 4.25; λ_{\max} 392 m μ , lg ϵ 3.83.

C₆H₅O₂N₅·H₂O (197.1) Ber. C 36.55 H 3.58 O 24.35 N 35.52
Gef. C 36.63 H 3.49 O 24.19 N 35.34

Isoxanthopterin-carbonsäure-[4a-¹⁴C]: 18.0 mg 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat-monohydrat-[5-¹⁴C], 40.5 mg Mesoxalester-hydrat und 15 mg wasserfreies Kaliumacetat werden am Rückflußkühler in 1 ccm Eisessig 20 Min. (Badtemperatur 130°) und nach Zugabe von 1 ccm Wasser weitere 20 Min. gekocht. Nach dem Abkühlen wird das fast farblose Reaktionsprodukt von der gelblichen Lösung abzentrifugiert, zur Entfernung der Xanthopterin-carbonsäure je dreimal mit 50-proz. Essigsäure (60–80°), mit essigsäurem Wasser und mit Methanol (2 Tropfen Eisessig auf 15 ccm Methanol) gewaschen; für jedes Waschen werden 2–3 ccm Flüssigkeit verwendet. Nach Trocknung i. Vak. über konz. H₂SO₄ beträgt die Ausb. 14.7–15.0 mg (94–96% d. Th.).

λ_{\max} 220 m μ , lg ϵ 4.49; λ_{\max} 347.5 m μ , lg ϵ 4.09.

Guanin-[5-¹⁴C]: 38.8 mg 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat-monohydrat-[5-¹⁴C] werden in 0.4 ccm Formamid 20 Min. auf 210° erhitzt (Metallbad). Das Sulfat löst sich rasch auf, nach ca. 5 Min. beginnt die Abscheidung des Guanin. Nach dem Abkühlen wird mit 4 ccm Wasser verdünnt und 10 Min. auf 100° erhitzt. Nach 12 stdg. Stehenlassen bei 0° wird abzentrifugiert, dreimal mit je 3 ccm Wasser,

zweimal mit je 3 ccm Methanol gewaschen und i. Vak. über konz. H_2SO_4 getrocknet. Ausb. 22.0–22.2 mg (97% d. Th.).

λ_{\max} 214 $m\mu$, $lg \epsilon$ 4.20; λ_{\max} 274 $m\mu$, $lg \epsilon$ 3.92¹⁹).

Xanthin-[5-¹⁴C]: 10.0 mg Guanin-[5-¹⁴C] werden in 1.0 ccm 2*n* H_2SO_4 gelöst und bei 80–90° im Verlaufe von 30 Min. mit 10 mg $NaNO_2$ in 2 ccm Wasser versetzt. Durch Zugabe von wenig 2*n* NaOH wird ausgefallenes Xanthin in Lösung gebracht. Bei 90° wird nun mit 2*n* Essigsäure schwach angesäuert und langsam abgekühlt. Das Xanthin scheidet sich kristallin und nahezu farblos ab. Nach Stehenlassen bei 0° über Nacht, Abzentrifugieren und Waschen, wie bei Guanin angegeben, erhält man 9.4–9.6 mg (94 bis 96% d. Th.).

λ_{\max} 214 $m\mu$, $lg \epsilon$ 4.30; λ_{\max} 283 $m\mu$, $lg \epsilon$ 3.96¹⁹).

Alle UV-Spektren wurden im Bereich von 190–500 $m\mu$ mit dem Gitterspektrophotometer Optica gemessen. Lösungsmittel: n_{10} NaOH.

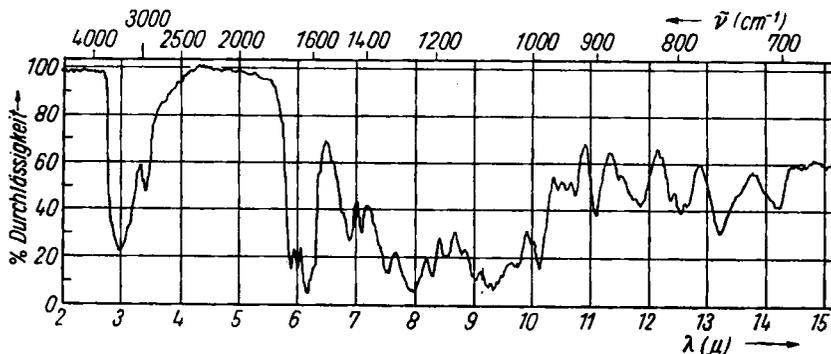
341. Friedhelm Korte und Hans-Gerd Schicke: Zur chemischen Klassifizierung von Pflanzen, XII. Mitteil.¹⁾: Zur Kenntnis des Amarogentins

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn]

(Eingegangen am 5. Juli 1956)

Amarogentin wird in 0.05% Ausbeute aus handelsüblichem Chirettakraut isoliert. Die Summenformel für das bittere Glucosid ist $C_{30}H_{24}O_{10}$. Die Enzym- und Säurespaltung verläuft uneinheitlich, das Molekül enthält keine OCH_3 -Gruppe, bei der Lactontitration werden 2 Moll. NaOH verbraucht. Die optisch nachgewiesene Doppelbindung ist schwer hydrierbar. Aus dem nicht bitteren Amarogentin-tetraacetat läßt sich der Bitterstoff zurückgewinnen.

Kürzlich wurde über die Isolierung des Bitterstoffes Amarogentin aus Gentianaceen berichtet²⁾. Da die Substanz nicht kristallisiert, war es notwendig, ihre Einheitlichkeit zu prüfen. Dazu wurde sie mehrfach nach verschiedenen Verfahren gereinigt, wobei sich ergab, daß die erhaltenen Produkte in allen chemischen und physikalischen Eigenschaften identisch sind. Lage und Intensitätsverhältnis der einzelnen Banden im IR (Abbild. 1) stimmen überein.



Abbild. 1. IR-Spektrum von Amarogentin, in KBr gepreßt

¹⁹) S. F. Mason, J. chem. Soc. [London] 1954, 2071.

¹⁾ XI. Mitteil.: F. Korte, Chem. Ber. 88, 1627 [1955].

²⁾ F. Korte, Chem. Ber. 88, 704 [1955].