

WOLFGANG PFLEIDERER und MANFRED RUKWIED*)

Pteridine, XIII¹⁾

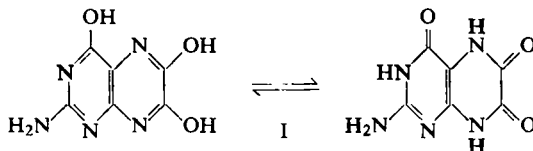
Zur Struktur des Leukopterin

Aus dem Institut für Organische Chemie und Organisch-Chemische Technologie
der Technischen Hochschule Stuttgart

(Eingegangen am 14. Juli 1960)

Die Darstellung verschiedener *O*- und *N*-Methylderivate des Leukopterin (I) wird beschrieben. Der Vergleich der UV-Absorptionsspektren deutet darauf hin, daß im Leukopterin sämtliche Hydroxygruppen in der Lactamkonfiguration vorliegen. Die Dissoziationssequenz der aciden H-Atome im 2-Amino-4.6.7-tri-oxo-hexahydropteridin kann aus den Spektren im Sinne von N-8, N-3, N-5 abgeleitet werden.

Mit der Isolierung des weißen Schmetterlingspigments Leukopterin (I) aus den Flügeln der Kohlweißlinge²⁾ wurden u. a. die systematischen Untersuchungen auf dem Pteridingebiet eingeleitet. Das Leukopterin stellt, neben dem Xanthopterin³⁾, nicht nur eines der ersten in reiner Form isolierten natürlichen Pteridinderivate dar, sondern es konnte später auch als erster Naturstoff dieser Verbindungsklasse in seiner richtigen Konstitution⁴⁾ erkannt werden. Obwohl man seit den grundlegenden Arbeiten von R. PURRMANN weiß, daß das Leukopterin ein 2-Amino-4.6.7-trihydroxypteridin ist, wurden bisher noch keine Untersuchungen über die wahre Natur der einzelnen Hydroxygruppen angestellt. Wir haben aus diesem Grunde verschiedene *O*- und *N*-Methylderivate des Leukopterin dargestellt, um auf der Basis eines Spektrenvergleiches eine Aussage über die möglichen Tautomerieverhältnisse zu erhalten.



Richtungweisend für die Darstellung der einzelnen Verbindungen war dabei die mehrfach beschriebene Schmelzkondensationsreaktion^{4,5)} zwischen den 4.5-Diaminopyrimidin-Derivaten II, III, IV und Oxalsäure.

Während die Schmelzkondensation nur im Falle des 3-Methyl- (V) und 8-Methyl-2-amino-4.6.7-tri-oxo-hexahydropteridins (VI) in guter Ausbeute verlief, ließ sich das 3.8-Dimethyl-Derivat (VII) auf diesem Wege lediglich in geringer Menge und in Form eines unreinen Produktes erhalten. Wir haben die Reaktionsbedingungen daraufhin

*) Teil der Dissertat. M. RUKWIED, Techn. Hochsch. Stuttgart 1958.

1) XII. Mittel.: W. PFLEIDERER und R. LOHRMANN, Chem. Ber. **94**, 12 [1961].

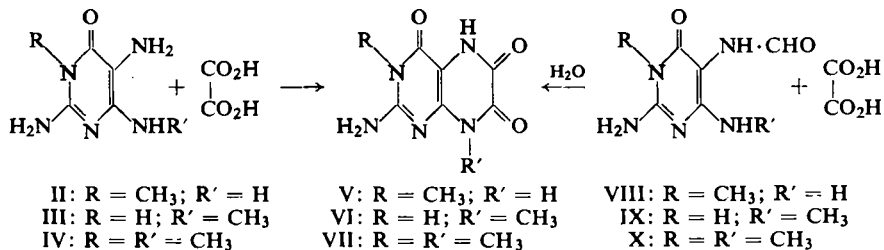
2) C. SCHÖPF und H. WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2067 [1926].

3) H. WIELAND und C. SCHÖPF, Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 2178 [1925].

4) R. PURRMANN, Liebigs Ann. Chem. **544**, 182 [1940].

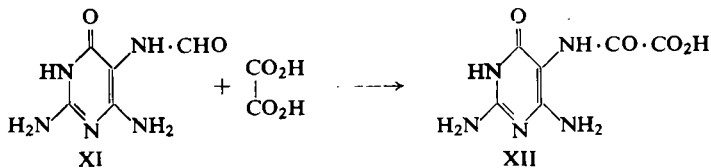
5) H. WIELAND, A. TARTTER und R. PURRMANN, Liebigs Ann. Chem. **545**, 209 [1940]; R. PURRMANN, ebenda **546**, 98 [1940]; A. ALBERT, D. J. BROWN und G. CHEESEMAN, J. chem. Soc. [London] **1952**, 1620; A. ALBERT und D. J. BROWN, ebenda **1953**, 74; W. PFLEIDERER, Chem. Ber. **90**, 2631 [1957].

in der Weise abgeändert, daß wir die Kondensationen in wäßrigem Medium ausführten. Aus diesen Umsetzungen, die besonders glatt mit den 5-Amino-4-methyl-



amino-pyrimidinen III und IV verliefen, resultierten wesentlich reinere Rohprodukte und auch die Ausbeuten waren z. T. höher. Eine noch weitere Vereinfachung für die Darstellung von V, VI und VII fanden wir dadurch, daß wir als Kondensationskomponenten für die Oxalsäure nicht die Basen II, III, IV bzw. ihre Hydrochloride einsetzten, sondern die entsprechenden leicht zugänglichen 5-Formylamino-pyrimidin-Derivate VIII, IX und X als Ausgangsverbindung wählten. Sie unterliegen in bekannter Weise⁶⁾ primär einer Säurehydrolyse und treten danach mit der Oxalsäure in Reaktion.

Überrascht hat uns die Tatsache, daß sich diese Methode für die Darstellung des Leukopterin selbst nicht verwerten läßt. Bei der Kondensation von 2,4,5-Triamino-6-oxo-dihydropyrimidin mit Oxalsäure in Wasser entsteht I nämlich nur in untergeordnetem Maße, während das Hauptprodukt eine farblose, im Papierchromatogramm unter der UV-Lampe unter Absorption in Erscheinung tretende Substanz darstellt. Die Reindarstellung dieser Verbindung gelingt nicht durch Abtrennung des als Nebenprodukt entstehenden Leukopterin, sondern durch Umsetzung von 2,4-Diamino-5-formylamino-6-oxo-dihydropyrimidin (XI) mit Oxalsäure in Wasser.



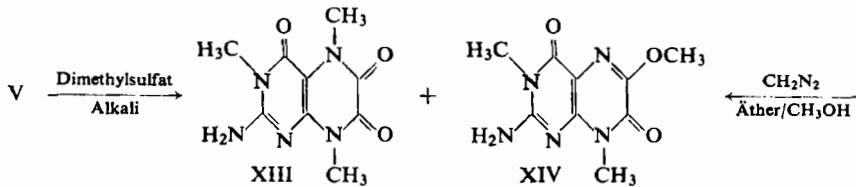
Auf Grund des allgemeinen Reaktionsverhaltens von 4,5-Diamino-pyrimidinen, der C₇H₇N₃-Analyse, des UV-Absorptionsspektrums, sowie des fehlenden Fluoreszenzverhaltens dürfte das erhaltene Produkt als 2,4-Diamino-5-oxalylamino-6-oxo-dihydropyrimidin (XII) zu formulieren sein.

Das für die Strukturuntersuchungen von I benötigte 3,5,8-Trimethyl-2-amino-4,6,7-trioxo-hexahydropteridin (XIII) haben wir durch Methylierung von V mit Dimethylsulfat/Alkali darstellen können.

Bei dieser Umsetzung entsteht in etwa 10-proz. Ausbeute ein Nebenprodukt, dem wir die Konstitution eines 3,8-Dimethyl-2-amino-6-methoxy-4,7-dioxo-tetrahydropteridins (XIV) zuschreiben. Die Elementaranalyse, der Methoxylwert sowie die alkalische Verseifung zu VII bildeten die Grundlagen bei der Konstitutionsermittlung.

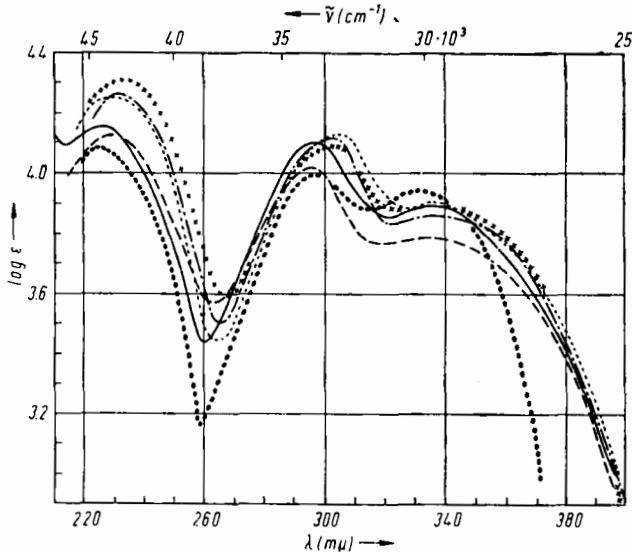
⁶⁾ W. PFLEIDERER, Chem. Ber. 90, 2272 [1957].

Nachdem es uns gelungen war, mehrere *O*- und *N*-Methylderivate des Leukopterin darzustellen, lag es nahe, auch die von H. WIELAND und P. DECKER⁷⁾ bei der Methylierung von I mit Diazomethan in ätherisch/methanolischer Lösung erhaltenen Tri-



methyl-leukopterine in ihrer Struktur zu bestimmen. Wir stellten fest, daß das sogenannte β -Trimethyl-leukopterin mit XIII identisch ist, während das α -Trimethyl-leukopterin keine einheitliche Substanz, sondern vielmehr ein Gemisch dreier Verbindungen darstellt. Zwei davon konnten durch Vergleiche auf papierchromatographischem Wege als XIII bzw. XIV identifiziert werden, wogegen die R_F -Werte der dritten Substanz mit keiner der von uns dargestellten Verbindungen übereinstimmten (Tab. 1). Da uns die Abtrennung und Reindarstellung dieser dritten Komponente bis heute noch nicht gelungen ist, muß ihre Struktur vorerst offen bleiben.

Nach den papierchromatographischen Untersuchungen auf Reinheit wurden von I und sämtlichen neu synthetisierten Pteridinderivaten die p_K -Werte spektrophotometrisch bestimmt und dann die darauf basierenden UV-Absorptionsspektren der Neutalmoleküle und Anionen aufgenommen.



Abbild. 1. UV-Absorptionsspektren der Neutalmoleküle des Leukopterin (I) (p_H 5.0) ———; des 3-Methyl- (V) (p_H 4.5) - - - -; des 8-Methyl- (VI) (p_H 5.2) ······; des 3,8-Dimethyl- (VII) (p_H 6.0) ······; des 3,5,8-Trimethyl-2-amino-4,6,7-trioxo-hexahydropteridins (XIII) (p_H 6.0) ××××; und des 3,8-Dimethyl-2-amino-6-methoxy-4,7-dioxo-tetrahydropteridins (XIV) (p_H 6.0) ○○○○

7) Liebigs Ann. Chem. 547, 180 [1941].

Tab. 1. R_F -Werte und Fluoreszenzfarben von Pteridinen

Substanz	n-Butanol/5 n Essigsäure (2:1)		n-Propanol/1-proz. NH_3 (2:1)		4-proz. Natriumcitrat		3-proz. NH_4Cl	
	R_F	254 m μ	R_F	254 m μ	R_F	254 m μ	R_F	254 m μ
Leukopterin (I)	0.06	GR	0.07	FB	GR	BL	0.18	GR
V	0.14	FB	0.08	FB	GR	FB	0.32	FB
VI	0.12	FB	0.11	FB	GR	FB	0.38	FB
VII	0.16	FB	0.17	FB	GR	FB	0.47	FB
XIII	0.37	FB	0.46	FB	GR	FG	0.57	FB
XIV	0.38	DB	0.48	DB	DB	DB	0.42	DB
Zum Vergleich:								
1.3.6-Trimethyl-7-hydroxy- 2.4-dioxo-tetrahydropteridin	0.70	B	0.50	B	B	B	0.60	B

Absteigende Methode auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b. Gf. Fluoreszenzfarben beim Bestrahen mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254 \text{ m}\mu$ und $365 \text{ m}\mu$: FB = fahlblau, DB = dunkelblau, GR = grau und FG = fahlgelb, BL = bläulich.

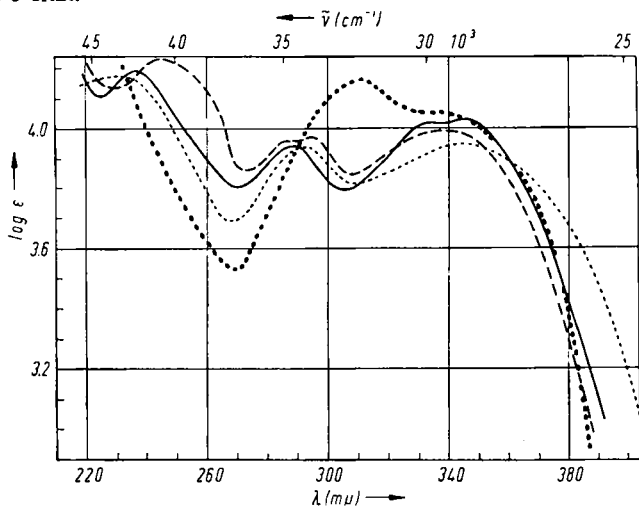
Tab. 2. Physikalische Konstanten von Pteridinen

Substanz	pK -Werte in Wasser (20°) Streuung	UV-Absorptionsspektren		pH -Wert	Molekülfart				
		λ_{max} (m μ)	log ϵ_{max}						
Leukopterin (I)	7.56 \pm 0.1	225	296	336	4.15	4.10	3.89	5.0	Neutralm. 0
	9.78 \pm 0.04	237	288	333	4.19	3.94	4.02	8.7	Monoanion --
	13.6 \pm 0.1	239	280	341	4.20	3.86	4.02	12.0	Dianion --
		221	240	287	4.28	4.27	3.88	4.10	4 n NaOH
V	7.60 \pm 0.1	229	296	335	4.12	4.01	3.78	5.4	0
	10.95 \pm 0.1	218	243	[286]	4.23	4.23	[3.96]	3.97	4.00
		219	241	297	4.30	4.34	3.99	4.10	14.00
VI	7.95 \pm 0.1	229	305	334	4.26	4.13	3.91	5.2	0
	10.20 \pm 0.1	210	232	293	4.21	4.17	3.94	3.95	9.0
		213	230	298	4.22	4.15	3.94	4.06	13.0
VII	8.75 \pm 0.1	230	302	336	4.26	4.12	3.86	6.0	0
		213	312	[335]	4.32	4.16	[4.05]	11.0	0
XIII		233	303	336	4.32	4.10	3.91	6.0	0
XIV		224	297	330	4.08	3.99	3.94	6.0	0

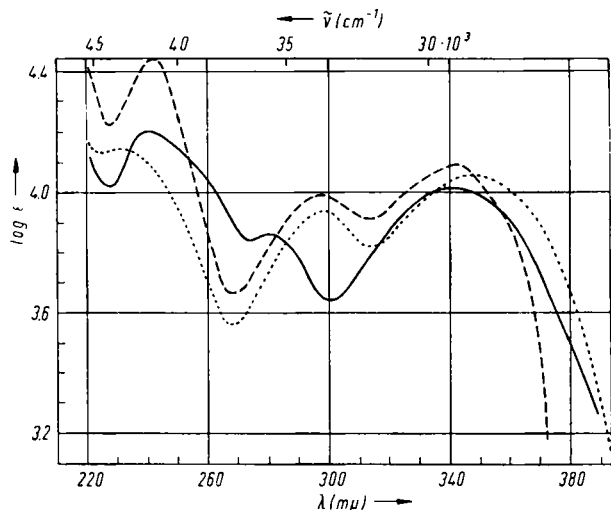
[] = Schulter

Ein Vergleich der Neutalmoleküle von I, V, VI, VII, XIII und XIV lehrt, daß im Leukopterin mit größter Wahrscheinlichkeit sämtliche Hydroxygruppen in der energetisch begünstigten Lactamkonfiguration vorliegen.

Das Spektrum von XIV läßt erkennen, daß selbst bei geringen spektralen Unterschieden zwischen *O*- und *N*-Methylderivaten noch eine exakte Strukturzuordnung möglich ist, wenn man nicht nur die Absorptionsmaxima, sondern den gesamten Kurvenverlauf heranzieht. Aus den Absorptionsspektren der Monoanionen sowie den ersten p_K -Werten kann man folgern, daß in I und V das acideste H-Atom am N-8 und in VI am N-3 sitzt.



Abbild. 2. UV-Absorptionsspektren der Monoanionen von I (p_H 8.7) —; V (p_H 9.2) - - -; VI (p_H 9.0) ····· und VII (p_H 11.0) ○○○○



Abbild. 3. UV-Absorptionsspektren der Dianionen von I (p_H 12.0) —; V (p_H 14.0) - - - und VI (p_H 13.0) ·····

Die Spektren der Dianionen schließlich deuten darauf hin, daß im Leukopterin in zweiter Stufe der Wasserstoff vom N-3 abdissoziierte, so daß sich für diesen Naturstoff die Ionisationssequenz N-8, N-3, N-5 ergibt.

Für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit möchten wir Herrn Prof. Dr. H. BREDERECK, der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT sowie dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE recht herzlich danken. Unser Dank gilt ferner der chem.-techn. Assistentin, Frl. I. FINK, für ihre wertvolle Mithilfe bei den Messungen der physikalischen Daten.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

3-Methyl-2-amino-4.6.7-trioxo-hexahydropteridin (V)

a) 2.9 g *1-Methyl-2.4.5-triamino-6-oxo-dihydropyrimidin-hydrochlorid* (entspr. II)⁸⁾ werden mit 15 g *Oxalsäure* innig verrieben und in einem Kolben langsam im Metallbad erhitzt. Das Gemisch schmilzt bei 120° und verfestigt sich wieder bei 145–150°. Nun wird der Kolben evakuiert und das Metallbad 2 Stdn. bei 215–225° gehalten. Das braune Reaktionsprodukt wird in verd. Natronlauge gelöst, mit Aktivkohle behandelt und nach Filtrieren die heiße Lösung tropfenweise zu 750 ccm verd. siedender Salzsäure gegeben. Der erhaltene feinkristalline Niederschlag wird durch dreimaliges Umfällen aus Natronlauge/Salzsäure gereinigt. 2.5 g schwach gelbliches Kristallpulver vom Schmp. > 350°.

$C_7H_7N_5O_3$ (209.2) Ber. C 40.19 H 3.37 N 33.48 Gef. C 39.42 H 3.47 N 33.52

b) 2.9 g *II-Hydrochlorid*⁸⁾ werden mit 15 g krist. *Oxalsäure* in 200 ccm Wasser 8 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Schon nach kurzem Kochen beginnt die Abscheidung eines Niederschlags. Man saugt heiß ab und fällt einmal aus Natronlauge/verd. Salzsäure um. 2.1 g schwach gelbliche Kristalle vom Schmp. > 350°.

c) 1 g *1-Methyl-2.4-diamino-5-formylamino-6-oxo-dihydropyrimidin* (VIII)⁸⁾ und 5 g *Oxalsäure* werden in 50 ccm Wasser 8 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Aus der anfänglich klaren Lösung scheidet sich nach kurzem Kochen ein kristalliner Niederschlag ab, der heiß abgesaugt und aus Natronlauge/Salzsäure umgefällt wird. 0.6 g schwach gelbliches Kristallpulver vom Schmp. > 350°.

8-Methyl-2-amino-4.6.7-trioxo-hexahydropteridin (VI)

a) Analog vorstehend aus 2.9 g *2.5-Diamino-4-methylamino-6-oxo-dihydropyrimidin-hydrochlorid* (entspr. III)⁹⁾ und 15 g krist. *Oxalsäure* durch Schmelzkondensation. Man löst das Rohprodukt in 150 ccm verd. Natronlauge und läßt es in 500 ccm verd. siedende Salzsäure eintropfen. 1.4 g gelbes Kristallpulver vom Schmp. > 350°.

b) Durch 2stdg. Kochen von 3.8 g *III-Hydrochlorid*⁹⁾ und 15 g *Oxalsäure* in 175 ccm Wasser. Durch Umfällen aus Natronlauge/Salzsäure erhält man 2.9 g gelbliche Kristalle vom Schmp. > 350°.

$C_7H_7N_5O_3$ (209.2) Ber. C 40.19 H 3.37 N 33.48 Gef. C 40.30 H 3.65 N 33.30

c) 1 g *2-Amino-4-methylamino-5-formylamino-6-oxo-dihydropyrimidin*⁹⁾ (IX) werden mit 5 g *Oxalsäure* in 50 ccm Wasser 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Schon nach 10 Min. Kochen beginnt die Abscheidung eines Niederschlags. Am Ende der Reaktion wird heiß abgesaugt und durch Umfällen gereinigt. 1.2 g gelbliche Kristalle vom Schmp. > 350°.

3.8-Dimethyl-2-amino-4.6.7-trioxo-hexahydropteridin (VII)

a) Aus 2 g *1-Methyl-2.5-diamino-4-methylamino-6-oxo-dihydropyrimidin-hydrochlorid* (entspr. IV)⁹⁾ und 10 g *Oxalsäure* durch Schmelzkondensation. Das Rohprodukt wird in 150 ccm

⁸⁾ W. PFLEIDERER, E. LIEDEK, R. LOHRMANN und M. RUKWIED, Chem. Ber. 93, 2015 [1960].

⁹⁾ W. PFLEIDERER und M. RUKWIED, Chem. Ber. 94, 1 [1961].

verd. Natronlauge gelöst, mit Aktivkohle behandelt, filtriert und dann tropfenweise langsam zu 200 ccm siedender verd. Salzsäure gegeben. 0.65 g bräunliche Kristalle vom Schmp. $> 350^\circ$.

b) 3 g *IV-Hydrochlorid*⁹⁾ und 15 g *Oxalsäure* werden in 150 ccm Wasser 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Durch Lösen des Niederschlags in 300 ccm verd. Natronlauge, Behandlung mit Aktivkohle und tropfenweise Zugabe zu siedender verd. Salzsäure erhält man 2.5 g hellgelbe Kristalle vom Schmp. $> 350^\circ$.

$C_8H_9N_5O_3$ (223.2) Ber. C 43.05 H 4.06 N 31.38 Gef. C 43.14 H 4.08 N 31.46

c) 1 g *l-Methyl-2-amino-4-methylamino-5-formylamino-6-oxo-dihydropyrimidin (X)*⁹⁾ werden in 40 ccm Wasser mit 5 g *Oxalsäure* $1\frac{1}{2}$ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Der abgeschiedene Niederschlag wird abgesaugt; durch Umfällen erhält man 0.8 g hellgelbe Kristalle vom Schmp. $> 350^\circ$.

2.4-Diamino-5-oxalylamino-6-oxo-dihydropyrimidin (XII): 1 g *2.4-Diamino-5-formylamino-6-oxo-dihydropyrimidin (XI)* und 5 g *Oxalsäure* werden in 100 ccm Wasser 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Es tritt anfänglich klare Lösung ein und nach etwa 5 Min. Kochen beginnt die Abscheidung eines Niederschlags. Man saugt heiß ab, wäscht mit Wasser und Äthanol und trocknet bei 110° . 1.2 g farbloses Kristallpulver vom Schmp. $> 350^\circ$.

$C_6H_7N_5O_4$ (213.2) Ber. C 33.81 H 3.31 N 32.86 Gef. C 33.30 H 3.53 N 32.79

3.8-Dimethyl-2-amino-6-methoxy-4.7-dioxo-tetrahydropteridin (XIV): Die Lösung von 2.1 g *V* in 160 ccm 0.25 *n* NaOH wird unter intensivem Rühren bei $30-35^\circ$ Wasserbadtemp. tropfenweise mit 5 ccm *Dimethylsulfat* versetzt. Man rührt insgesamt 1.5 Stdn. und hält durch langsames Zutropfen von 0.5 *n* NaOH den *pH* der Lösung bei 9. Nach beendeter Reaktion wird der abgeschiedene Niederschlag abgesaugt, aus 300 ccm Wasser umkristallisiert und bei 110° getrocknet. 0.2 g farblose Kristalle vom Schmp. $> 350^\circ$.

$C_9H_{11}N_5O_3 \cdot H_2O$ (255.2) Ber. C 42.35 H 5.13 N 27.44 OCH_3 12.15
Gef. C 42.38 H 5.34 N 27.85 OCH_3 11.79

3.5.8-Trimethyl-2-amino-4.6.7-trioxo-hexahydropteridin (XIII): Das Reaktionsfiltrat vorst. Umsetzung wird mit Essigsäure schwach angesäuert und dann i. Vak. auf das halbe Volumen eingengt. Durch kräftiges Kühlen erhält man einen Niederschlag, der aus Wasser umkristallisiert wird. 1.45 g farblose Nadeln vom Schmp. $> 350^\circ$.

$C_9H_{11}N_5O_3$ (237.2) Ber. C 45.57 H 4.67 N 29.53 Gef. C 45.15 H 4.77 N 29.51