

WOLFGANG PFLEIDERER UND MANFRED RUKWIED *)

Pteridine, XIX¹⁾

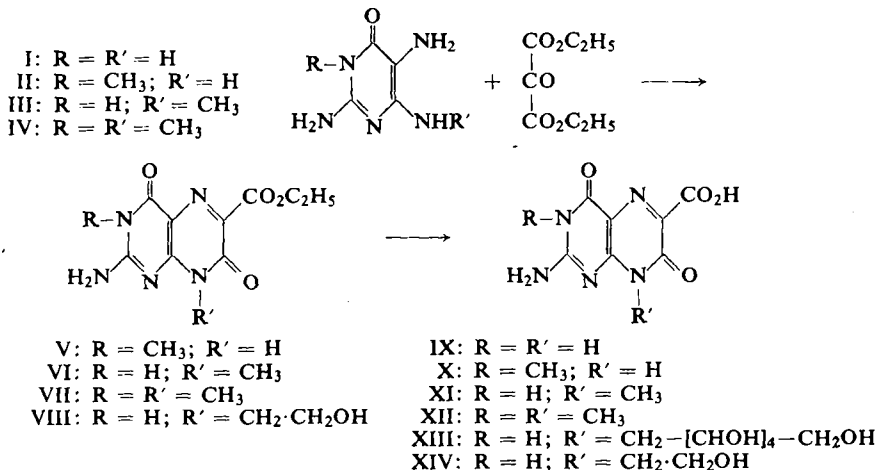
Zur Struktur der Isoxanthopterin-carbonsäure

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

(Eingegangen am 24. November 1961)

Die Darstellung verschiedener *N*-substituierter Isoxanthopterin-carbonsäuren und -carbonsäureester wird beschrieben. Ihre *pK*-Werte werden bestimmt und die hierauf basierenden UV-Absorptionsspektren der Neutralmoleküle und reinen Ionen aufgenommen. Die Isoxanthopterin-carbonsäure muß demnach in der 4,7-Di-oxo-Form (IX) vorliegen. Die Ionisationssequenz ihrer aciden H-Atome lautet: Carboxylgruppe, N-8-, N-3-Atom.

Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Struktur natürlicher Pteridine²⁻⁵⁾ haben wir auch die in den Schuppen des japanischen Karpfens⁶⁾ aufgefundene Isoxanthopterin-carbonsäure (IX) in unser Arbeitsprogramm miteinbezogen. Zur Klärung der Tautomerieverhältnisse in IX haben wir analog der erstmals von R. PURRMANN⁷⁾ angewandten Kondensationsmethode neben 2,4,5-Triamino-6-oxo-



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

1) XVIII. Mitteil.: W. PFLEIDERER, E. LIEDEK und M. RUKWIED, Chem. Ber. **95**, 755 [1962].

2) W. PFLEIDERER und G. NÜBEL, Chem. Ber. **93**, 1406 [1960].

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

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

5) W. PFLEIDERER und M. RUKWIED, Chem. Ber. **94**, 118 [1961].

6) S. MATSUURA, S. NAWA, M. GOTO und Y. HIRATA, J. Biochemistry [Tokyo] **42**, 419 [1955].

7) Liebigs Ann. Chem. **548**, 284 [1941].

dihydropyrimidin (I), sein 1-Methyl- (II), sein 4-Methylamino- (III) und sein 1-Methyl-4-methylamino-Derivat (IV) mit Mesoxalsäure-diäthylester in schwach saurem Medium kondensiert.

Da bei dieser Reaktion stets schwer zu trennende Gemische der entsprechend substituierten Pteridin-carbonsäuren-(6) und Pteridin-carbonsäure-(6)-äthylester entstehen, haben wir die Reaktionsprodukte auch zu den freien Säuren verseift und dann einen Teil hiervon durch Kochen in Äthanol/H⁺ in die reinen Ester übergeführt. Lediglich den 3.8-Dimethyl-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6)-äthylester (VII) konnten wir durch Auskochen des Kondensationsproduktes mit sehr viel Äthanol direkt rein erhalten. Die Darstellung von papierchromatographisch reinem Isoxanthopterincarbonsäure-äthylester ist uns nicht gelungen, da infolge der außerordentlichen Schwerlöslichkeit von IX seine vollständige Veresterung mißlang. Zur Ergänzung unserer Untersuchungen haben wir ferner die schon beschriebene 8-[D-Sorbityl-(1)]-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6) (XIII)⁸⁾, die 8-[β-Hydroxy-äthyl]-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6) (XIV)⁹⁾ dargestellt, um einen eventuellen Einfluß einer längeren Hydroxyalkylseitenkette auf die UV-Absorption feststellen zu können.

Nachdem sämtliche Verbindungen durch eingehende papierchromatographische Untersuchungen auf Reinheit geprüft worden waren (Tab. 1), haben wir ihre pK-Werte auf spektrophotometrischem Wege bestimmt und die UV-Absorptionsspektren der Neutalmoleküle und reinen Ionen aufgenommen (Tab. 2).

Tab. 1. R_F -Werte von Isoxanthopterin-carbonsäuren und deren Äthylester. Absteigende Methode auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b Gl. Beim Bestrahlen mit UV-Licht der Wellenlänge 254 m μ und 365 m μ wurde bei sämtlichen Substanzen eine blaue Fluoreszenz beobachtet

| | n-Butanol/ 5n Essigsäure (2:1) R_F | n-Propanol/ 1-proz. NH ₃ (2:1) R_F | 4-proz. Natriumcitrat R_F | 3-proz. NH ₄ Cl R_F |
|---|---|--|-----------------------------------|--|
| IX | 0.04 | 0.02 | 0.48 | 0.34 |
| X | 0.08 | 0.05 | 0.62 | 0.52 |
| V | 0.34 | 0.35 | 0.40 | 0.31 |
| XI | 0.11 | 0.08 | 0.54 | 0.52 |
| VI | 0.46 | 0.43 | 0.31 | 0.44 |
| XII | 0.16 | 0.21 | 0.63 | 0.64 |
| VII | 0.55 | 0.64 | 0.52 | 0.54 |
| XIII | 0.08 | 0.07 | 0.64 | 0.61 |
| XIV | 0.03 | 0.04 | 0.68 | 0.70 |
| VIII | 0.43 | 0.45 | 0.42 | 0.54 |
| Vergleichssubstanz: 1.3.6-Trimethyl-7-hydroxy- 2.4-dioxo-tetrahydropteridin | 0.70 | 0.60 | 0.50 | 0.60 |

Obwohl die vollkommene Unlöslichkeit der Isoxanthopterincarbonsäure (IX) als Neutalmolekül einer Bestimmung des ersten aciden pK-Wertes und der Aufnahme ihres UV-Spektrums entgegenstand, bringen die übereinstimmenden Kurvenverläufe

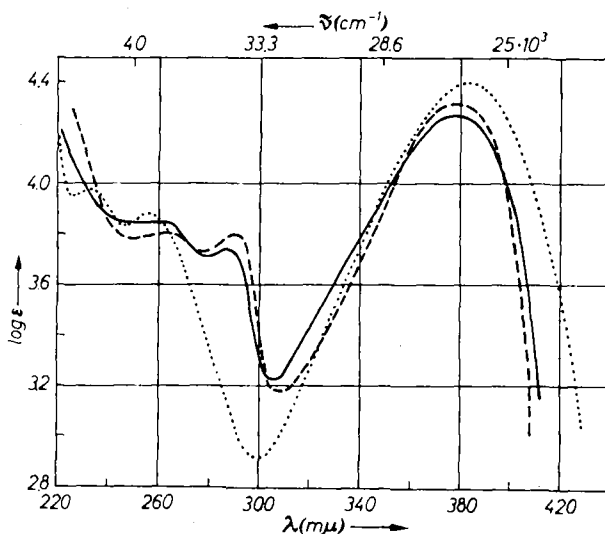
⁸⁾ E. C. TAYLOR und H. M. LOUX, J. Amer. chem. Soc. **81**, 2474 [1959].

⁹⁾ G. B. ELION und G. H. HITCHINGS, J. Amer. chem. Soc. **75**, 4311 [1953].

Tab. 2. Physikalische Konstanten von Isoxanthopterin-carbonsäuren und deren Äthylester

| | pK-Werte in Wasser 20° Streuung | UV-Absorptionsspektren | | | | | | pH | Molekülart | | |
|------|---------------------------------------|-----------------------------|-----------|-------|-----------------------|-------------|--------|------|---|---------------|--------------------|
| | | λ_{\max} (m μ) | | | log ϵ_{\max} | | | | | | |
| IX | 8.00 \pm 0.1 | 214 | 289 | 350 | 4.50 | 3.97 | 4.15 | 5.0 | Monoanion — Dianion — — Trianion — — — Neutralmol. 0 | | |
| | 9.50 \pm 0.05 | 229 [255] | 285 | 338 | 4.40 [3.88] | 3.81 | 4.11 | 8.75 | | | |
| | | 224 | 258 | 346 | 4.52 | 4.02 | 4.14 | 12.0 | | | |
| X | 3.40 \pm 0.1 | | [253] | 288 | 380 | [3.85] | 3.74 | 4.27 | 1.0 | Neutralmol. 0 | |
| | 8.05 \pm 0.1 | 223 | 290 | 354 | 4.24 | 3.99 | 4.25 | 5.8 | | | |
| V | 6.95 \pm 0.1 | | 260 | 287 | 338 | 3.95 | 3.92 | 4.16 | 10.6 | — | |
| | | | 265 | 288 | 375 | 3.93 | 3.89 | 4.43 | 5.0 | 0 | |
| | | | 271 [288] | 361 | | 4.09 [3.89] | 4.31 | | 10.0 | — | |
| XI | 3.50 \pm 0.1 | 221 | 263 | 291 | 380 | 4.52 | 3.81 | 3.81 | 4.33 | 1.0 | 0 |
| | 8.4 \pm 0.1 | | 293 | 352 | | | 4.01 | 4.23 | 5.8 | — | |
| | | | 261 [286] | 366 | | 4.10 [3.57] | 4.27 | | 10.6 | — | |
| VI | 7.55 \pm 0.15 | | 265 | 291 | 373 | 3.82 | 3.90 | 4.36 | 5.0 | 0 | |
| | | | 267 | 386 | | 4.15 | 4.39 | | 10.0 | — | |
| | | | 221 | 253 | 268 | 375 | 4.40 | 3.90 | 3.92 | 4.28 | 1.0 |
| XII | 3.74 \pm 0.1 | | 258 | 292 | 356 | 3.75 | 3.91 | 4.22 | 6.0 | — | |
| | | | 212 | 264 | 292 | 371 | 4.59 | 3.84 | 3.78 | 4.33 | CH ₃ OH |
| VII | | | 265 | 289 | 374 | 3.94 | 3.81 | 4.38 | 6.0 | 0 | |
| | | | 221 | 269 | 291 | 382 | 4.49 | 3.87 | 3.84 | 4.35 | 1.0 |
| | | | | [255] | 293 | 353 | [3.67] | 3.97 | 4.20 | 6.0 | — |
| XIII | 3.57 \pm 0.1 | | 262 [285] | 368 | | 4.10 [3.61] | 4.21 | | 12.0 | — | |
| | 8.40 \pm 0.1 | 221 | 269 | 292 | 383 | 4.41 | 3.72 | 3.72 | 4.26 | 1.0 | |
| | | | [255] | 293 | 353 | [3.54] | 3.90 | 4.12 | 6.0 | — | |
| XIV | 3.50 \pm 0.1 | 221 | 269 | 292 | 383 | 4.41 | 3.72 | 3.72 | 4.26 | 1.0 | |
| | 8.29 \pm 0.1 | | [255] | 293 | 353 | [3.54] | 3.90 | 4.12 | 6.0 | — | |
| | | | 261 [286] | 369 | | 4.01 [3.50] | 4.17 | | 12.0 | — | |
| VIII | 7.57 \pm 0.1 | | 268 | 290 | 376 | 3.89 | 3.90 | 4.39 | 5.0 | 0 | |
| | | | | 268 | 391 | | 4.23 | 4.47 | | 10.0 | — |

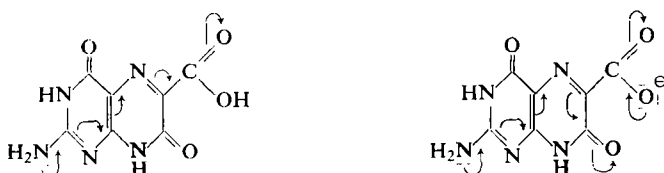
[] Schulter



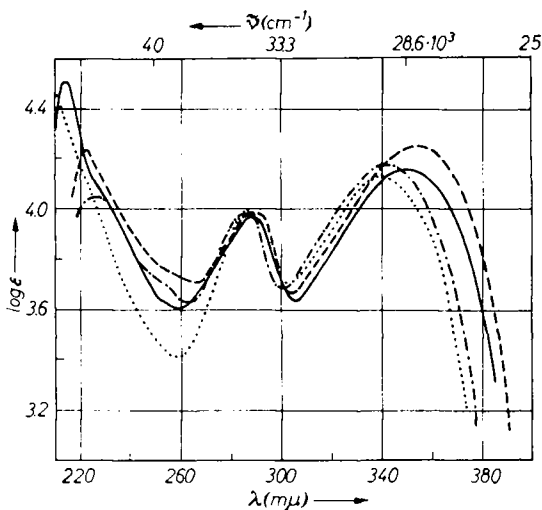
Abbild. 1. UV-Absorptionsspektren der Neutralmoleküle von X (pH 1.0) ———, XI (pH 1.0) — — — und der 8-Methyl-2-amino-4-methoxy-7-oxo-dihydropteridin-carbonsäure-(6) (pH 1.0) ·····

der übrigen Carbonsäuren bzw. Carbonsäureester zum Ausdruck, daß aller Wahrscheinlichkeit nach auch IX eine analoge Struktur besitzt. Der erste saure pK -Wert von IX dürfte bei etwa 3–3.2 liegen, da in dieser Verbindung der schwache aciditätsvermindernde Hyperkonjugationseffekt der *N*-Alkyl-Substituenten fehlt. Aus dem Vergleich der Spektren der Neutalmoleküle von X, XI und der 8-Methyl-2-amino-4-methoxy-7-oxo-dihydropteridin-carbonsäure-(6)¹⁰⁾ geht weiter hervor, daß bei den Isoxanthopterin-carbonsäuren im Gegensatz zu den 7-Hydroxy-2,4-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäuren-(6)¹¹⁾ nicht nur die 4-Hydroxy- sondern auch die 7-Hydroxygruppe in der energetisch begünstigten Lactamform vorliegt.

Aus der starken hypsochromen Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande beim Übergang der Carbonsäuren von ihren Neutralformen zu den Monoanionen kann man folgern, daß das chromophore System der Neutalmoleküle die Carboxylgruppe in sich einschließt, im Anion jedoch durch die bevorzugte Eigenmesomerie der Carboxylatstruktur ihre Wechselwirkung mit dem Pteridinkern zu einem hohen Grade aufgehoben ist.



Die UV-Absorptionsspektren der Monoanionen weisen demzufolge auch eine große Ähnlichkeit zu den Neutalmolekülen der entsprechenden Isoxanthopterine⁴⁾ auf.



Abbild. 2. UV-Absorptionsspektren der Monoanionen von IX (pH 5.0) — und X (pH 5.8) - - - und der Neutalmoleküle des Isoxanthopterins (pH 4.0) ····· und seines 3-Methyl-Derivates (pH 5.2) - · - ·.

¹⁰⁾ W. PFLEIDERER und R. LOHRMANN, Chem. Ber. 94, 2708 [1961].

¹¹⁾ W. PFLEIDERER, Chem. Ber. 90, 2617 [1957].

Die weiteren hypsochromen bzw. bathochromen Verschiebungen der langwelligen Bande weisen denselben Gang auf, den wir schon bei den Isoxanthopterin⁴⁾ beobachtet haben. Die Abdissoziation des Protons vom N-8-Atom ist mit einer weiteren Farbaufhellung verbunden, während eine Anionbildung am N-3-Atom eine Rotverschiebung bedingt. Wertet man diese Erkenntnisse zur Klärung der Ionisationssequenz der aciden H-Atome in IX konsequent aus, so ergibt sich unzweideutig die Reihenfolge Carboxylgruppe, N-8, N-3.

Wir danken Herrn Prof. Dr. H. BREDERECK und dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE für die Unterstützung dieser Arbeit sowie der chem.-techn. Assistentin Fr. I. FINK für ihre wertvolle Mithilfe bei der Bestimmung der physikalischen Daten.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

3-Methyl-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6) (X)

Äthylester (V): 1.9 g 1-Methyl-2.4.5-triamino-6-oxo-dihydropyrimidin-hydrochlorid (II)³⁾ werden mit 8 ccm 1 n NaHCO₃, 22 ccm Wasser und 2 g Mesoxalsäure-diäthylester 10 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Aus der anfangs klaren Lösung scheidet sich nach kurzer Zeit ein Niederschlag ab. Man läßt abkühlen, verdünnt mit 20 ccm Wasser und saugt das Reaktionsprodukt ab (1.1 g). Die Substanz wird mit 200 ccm Wasser zum Sieden erhitzt und dann heiß filtriert. Der Rückstand wird nach Trocknen aus Dimethylformamid umkristallisiert. Ausb. 0.6 g farblose Kristalle vom Schmp. > 350°, ab 330° Dunkelfärbung.

C₁₀H₁₁N₅O₄·H₂O (283.2) Ber. C 42.40 H 4.63 N 24.73 Gef. C 42.17 H 4.62 N 24.50

Säure X: Eine Lösung von 3.8 g II³⁾ in 100 ccm Wasser wird mit verd. Ammoniak neutralisiert. Anschließend kocht man mit 100 ccm 2 n Essigsäure und 4.8 g Mesoxalsäure-diäthylester-hydrat 15 Min. unter Rückfluß, kühlt und saugt nach mehrstündigem Stehenlassen den Niederschlag ab (2.5 g). Das Reaktionsprodukt wird zur Verseifung 45 Min. in 100 ccm 1 n NaHCO₃ unter Rückfluß gekocht und nach Behandlung mit Aktivkohle das Filtrat langsam tropfenweise zu 500 ccm siedender 2 n HCl gegeben. Die freie Säure scheidet sich als hellgelbe feinkristalline Substanz ab, die aus Natronlauge/2 n HCl umgefällt wird. Ausb. 2.1 g vom Schmp. > 350°.

C₈H₇N₅O₄ (237.2) Ber. C 40.51 H 2.97 N 29.53 Gef. C 40.18 H 2.85 N 29.92

8-Methyl-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6) (XI)

Äthylester (VI): a) 1.9 g 2.5-Diamino-4-methylamino-6-oxo-dihydropyrimidin-hydrochlorid (III)⁴⁾ werden mit 10 ccm 1 n NaHCO₃, 20 ccm Wasser und 2 g Mesoxalsäure-diäthylester 15 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen wird der abgeschiedene gelbe Niederschlag abgesaugt, gewaschen, getrocknet (1.6 g) und mehrfach aus viel Äthanol mit Aktivkohle umkristallisiert. Ausb. 1.1 g farblose Nadeln vom Schmp. 295–298° (Zers.).

b) 0.5 g XI werden mit 90 ccm Äthanol und 10 ccm konz. Schwefelsäure 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Man engt auf ein kleines Volumen ein, versetzt mit Wasser und saugt den abgeschiedenen Niederschlag ab. Nach Umkristallisation aus Äthanol erhält man 0.3 g farblose Nadeln vom Schmp. 295–298° (Zers.).

C₁₀H₁₁N₅O₄ (265.2) Ber. C 45.28 H 4.18 N 26.41 Gef. C 44.92 H 4.28 N 26.25

Säure XI: 1.9 g III⁴⁾, gelöst in 50 ccm Wasser, werden mit 2.9 g Mesoxalsäure-diäthylester-hydrat 15 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen wird das Reaktionsprodukt gesammelt und 15 Min. in 175 ccm 1 n NaHCO₃ unter Rückfluß im Sieden gehalten. Das hierbei sich abscheidende schwerlösliche Natriumsalz von XI saugt man nach beendeter Reaktion ab,

löst es in 400 ccm kochendem Wasser, behandelt mit Aktivkohle und läßt dann das Filtrat in 500 ccm siedende 1 *n* HCl eintropfen. Nach erneuter Umfällung aus Lauge/Salzsäure erhält man 0.9 g hellgelbe Kristalle vom Schmp. > 350°.

$C_8H_7N_3O_4 \cdot 1/2 H_2O$ (246.2) Ber. C 39.02 H 3.26 N 28.45 Gef. C 39.20 H 3.56 N 28.35

3.8-Dimethyl-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6) (XII)

Äthylester (VII): Die Lösung von 1.2 g *1-Methyl-2.5-diamino-4-methylamino-6-oxo-dihydropyrimidin-dihydrochlorid (IV)*⁴⁾ in 50 ccm Wasser wird mit verd. Ammoniak bis pH 5 abgestumpft und mit 1 g *Mesoxalsäure-diäthylester* 10 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen wird der gelbliche Niederschlag gesammelt (0.8 g) und aus Äthanol mit Aktivkohle umkristallisiert. Ausb. 0.5 g blaßgelbe Kristalle vom Schmp. 308° (Zers.).

$C_{11}H_{13}N_5O_4$ (279.3) Ber. C 47.31 H 4.69 N 25.08 Gef. C 47.18 H 4.90 N 25.00

Säure XII: 0.45 g *VII* werden mit 15 ccm 1 *n* NaHCO₃ 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Schon in der Siedehitze scheidet sich ein schwerlösliches gelbes Natriumsalz ab. Es wird nach Abkühlen abgesaugt (0.4 g) und in heißem Wasser, dem man wenig 0.1 *n* NaOH zusetzt, gelöst. Nach Behandlung mit Aktivkohle läßt man die Lösung in 50 ccm siedende Salzsäure eintropfen. Der Niederschlag wird gesammelt, gewaschen und getrocknet. Ausb. 0.28 g blaßgelbe Kristalle vom Schmp. > 350°.

$C_9H_9N_5O_4$ (251.2) Ber. C 43.03 H 3.61 N 27.88 Gef. C 42.86 H 3.95 N 27.22

*8-[β-Hydroxy-äthyl]-2-amino-4.7-dioxo-tetrahydropteridin-carbonsäure-(6)-äthylester (VIII)*⁹⁾: Gemäß der Vorschrift von G. B. ELION⁹⁾ erhält man aus Wasser mit Aktivkohle gelbliche Kristalle, die bei 284° (Zers.) schmelzen.