

## WOLFGANG PFLEIDERER und FRITZ REISSER \*)

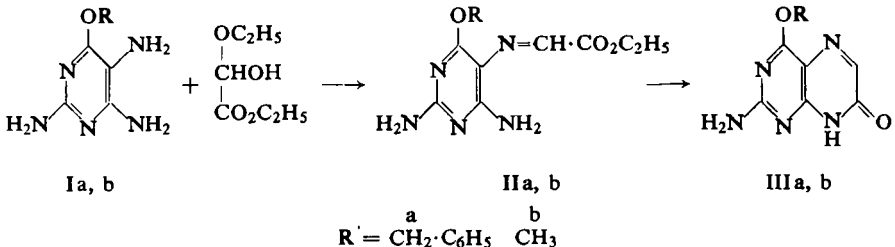
Pteridine, XXIII<sup>1)</sup>Über die Synthese und Struktur  
des Isoxanthopterin-7-O-β-D-glucopyranosidsAus dem Institut für Organische Chemie und Organisch-Chemische Technologie  
der Technischen Hochschule Stuttgart

(Eingegangen am 6. Dezember 1961)

Isoxanthopterin-7-O-β-D-glucopyranosid und 2-Amino-7-methoxy-4-oxo-dihydropteridin werden synthetisiert. Ihre UV-Absorptionsspektren zeigen, daß in sämtlichen von uns bis jetzt dargestellten Pteridin-glykosiden der Zuckerrest über den Sauerstoff an das C-Atom 7 gebunden ist, d. h. es sich in allen Fällen um 7-O-Glykoside handelt.

Die erfolgreiche Synthese von Pteridin-glykosiden<sup>2)</sup> durch analoge Anwendung der Fischer-Helferichschen Nucleosidsynthese<sup>3)</sup> auf 2-Amino-4-alkoxy-7-oxo-dihydropteridine bildete den Anlaß zur Darstellung eines sich von einem natürlichen Pteridin ableitenden Glucosids.

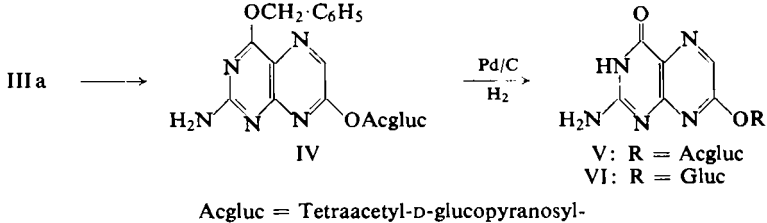
Da wir die Synthese des Isoxanthopterin-7-O-β-D-glucopyranosids anstrebten, war es zunächst erforderlich, ausgehend vom 2.4.5-Triamino-6-benzyloxy-pyrimidin (Ia), durch Kondensation mit Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal das 2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-dihydropteridin (IIIa) herzustellen. Es zeigte sich hierbei, daß die einstufige Kondensation im Gegensatz zur analogen Umsetzung mit Brenztraubensäureester<sup>2)</sup> zu keinem befriedigenden Ergebnis führte. Wir haben daher zunächst Ia mit Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal durch Schütteln bei Raumtemperatur in das schwerlösliche 2.4-Diamino-5-[carbäthoxy-methylenamino]-6-benzyloxy-pyrimidin (IIa) übergeführt und diese Schiffsche Base dann in wäßrig-äthanolischer Natriumhydrogencarbonatlösung zu IIIa cyclisiert<sup>4)</sup>.



\*) Diplomarbeit F. REISSER, Techn. Hochschule Stuttgart 1960.

1) XXII. Mitteil.: W. PFLEIDERER und G. NÜBEL, Chem. Ber. **95**, 1615 [1962], vorstehend.2) W. PFLEIDERER und R. LOHRMANN, Chem. Ber. **95**, 738 [1962].3) E. FISCHER und B. HELFERICH, Ber. dtsh. chem. Ges. **47**, 210 [1914].4) W. PFLEIDERER, Chem. Ber. **90**, 2588 [1957].

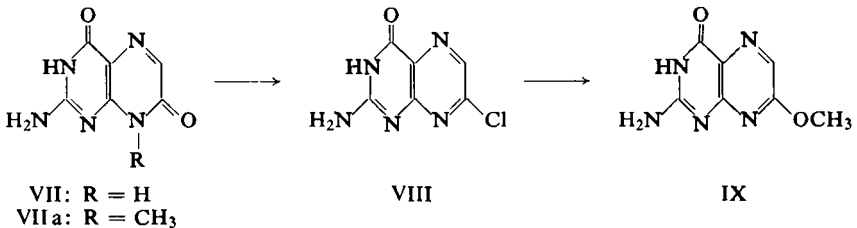
Die Umsetzung von IIIa mit  $\alpha$ -Acetobromglucose in siedendem Xylol bei Gegenwart von trockenem Silbercarbonat ergibt in 64-proz. Ausbeute ein Pteridin-glucosid, dem wir auf Grund der Übereinstimmung seines UV-Absorptionsspektrums mit den früher dargestellten Verbindungen<sup>2)</sup> die Struktur eines 2-Amino-4-benzyloxy-7-[2.3.4.6-tetraacetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy]-pteridins (IV) zuschreiben.



Wir hydrierten den Benzylrest von IV mit Wasserstoff und Palladium/Tierkohle als Katalysator in alkoholischer Lösung ab und erhielten auf diese Weise in sehr guter Ausbeute das 2-Amino-7-[2.3.4.6-tetraacetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy]-4-oxo-dihydropteridin (V). Bei der Deacetylierung mittels methanolischen Ammoniaks wurde zunächst das Ammoniumsalz von VI isoliert, das durch Neutralisation mit verd. Essigsäure in das freie Isoxanthopterin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (VI) überging.

Obwohl durch das analoge Verhalten sowie die übereinstimmenden physikalischen Eigenschaften von IV, V und VI mit den früher dargestellten Verbindungen<sup>2)</sup> die Identität der Strukturen gesichert ist, erschien es uns notwendig, die sehr wahrscheinlichen Konstitutionen im Sinne von Pteridin-7-O-glykosiden eindeutig zu beweisen.

Wir bemühten uns daher, ausgehend vom Isoxanthopterin (VII), durch Umsetzung mit Phosphoroxchlorid/Phosphorpentachlorid das 2-Amino-4.7-dichlor-pteridin zu erhalten, um dieses dann mittels Alkoholats in die bis jetzt unbekanntenen 2-Amino-4.7-dialkoxy-pteridine überführen zu können. Interessanterweise resultierte aus der Chlorierung von VII jedoch nicht das erwartete 4.7-Dichlorderivat, sondern es wurde lediglich eine Monochlorverbindung erhalten, die das Chloratom entweder in 4- oder in 7-Stellung (VIII) tragen konnte. Die Entscheidung sollte durch spektroskopischen Ver-

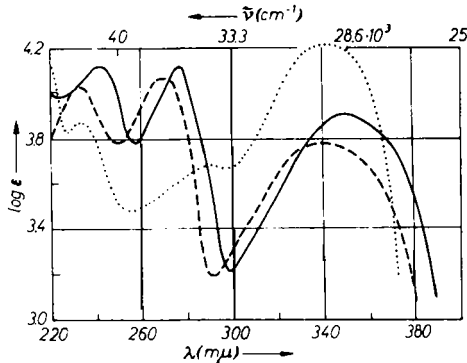


gleich mit dem 2-Amino-4-oxo-dihydro-<sup>5)</sup> bzw. 2-Amino-7-oxo-dihydropteridin<sup>6)</sup> möglich sein, da anzunehmen ist, daß das Chloratom am Pteridinskelett keinen tiefergreifenden Einfluß auf das optische Verhalten des Moleküls ausübt. Obwohl die UV-Absorptionsspektren der Kationen auf Grund ihrer Ähnlichkeit keinen eindeutigen

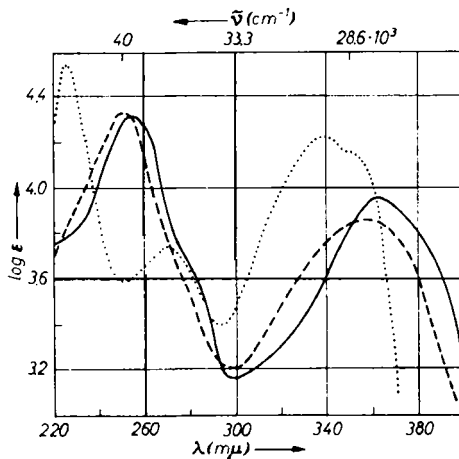
<sup>5)</sup> W. PFLEIDERER, E. LIEDEK, R. LOHRMANN und M. RUKWIED, Chem. Ber. 93, 2015 [1960].

<sup>6)</sup> W. PFLEIDERER und M. RUKWIED, Chem. Ber. 94, 1 [1961].

Schluß zulassen, geben die verschiedenartigen Kurvenverläufe der Neutrale Moleküle und Monoanionen bzw. die Verschiebungen der langwelligen Absorptionsbanden beim Übergang vom Neutrale Molekül zum Monoanion zu erkennen, daß die 7-Chlorverbindung VIII und nicht die 4-Chlorverbindung entstanden ist (Abbild. 1 und 2).



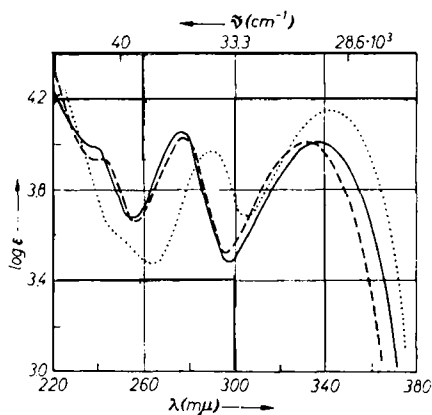
Abbild. 1. UV-Absorptionsspektren der Neutrale Moleküle von VIII (pH 5.0) ———, 2-Amino-4-oxo-dihydropteridin (pH 5.0) - - - und 2-Amino-7-oxo-dihydropteridin (pH 4.0) ·····



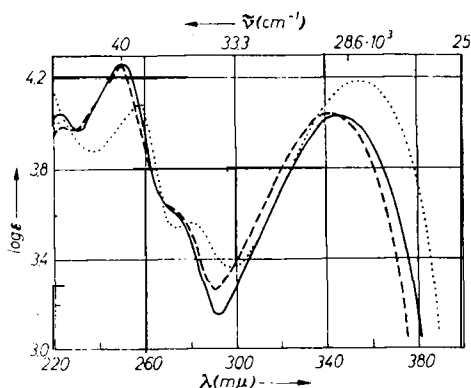
Abbild. 2. UV-Absorptionsspektren der Monoanionen von VIII (pH 10.0) ———, 2-Amino-4-oxo-dihydropteridin (pH 10.0) - - - und 2-Amino-7-oxo-dihydropteridin (pH 10.0) ·····

Die Richtigkeit dieser Annahme konnte schließlich dadurch eindeutig bewiesen werden, daß VIII bei der Umsetzung mit Natriummethylat ein Monomethoxyderivat lieferte, das von dem auf unzweideutigem Wege, nämlich ausgehend vom 2.4.5-Triamino-6-methoxy-pyrimidin (I b) über die Schiffsche Base II b, dargestellten 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-dihydropteridin (III b) verschieden war, und somit nur das 2-Amino-7-methoxy-4-oxo-dihydropteridin (IX) sein konnte.

Mit der Synthese von IX war uns nun eine Verbindung in die Hand gegeben, die neben dem 8-Methyl-2-amino-4,7-dioxo-tetrahydropteridin (VIIa)<sup>6</sup> als definierte Modellsubstanz zur eindeutigen Bestimmung der Struktur der Pteridin-glykoside Verwendung finden kann. Vergleichen wir das UV-Absorptionsspektrum des Neutralmoleküls und Monoanions des Isoxanthopterin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosids (VI) mit den Spektren der entsprechenden Molekülformen von IX und VIIa, so besteht kein Zweifel mehr, daß sämtliche von uns bis jetzt dargestellten Pteridin-glykoside, wie bisher angenommen, 7-O-Glykoside sind (Abbild. 3 und 4).



Abbild. 3. UV-Absorptionsspektren der Neutralmoleküle von VI (pH 6.0) ———, IX (pH 6.0) - - - - und VIIa (pH 5.8) ·····



Abbild. 4. UV-Absorptionsspektren der Monoanionen von VI (pH 11.0) ———, IX (pH 11.0) - - - - und VIIa (pH 10.6) ·····

Abschließend kann erwähnt werden, daß sämtliche Verbindungen vor der Bestimmung ihrer  $pK$ -Werte und UV-Absorptionsspektren (Tab. 2) papierchromatographisch sorgfältig auf Reinheit geprüft wurden (Tab. 1).

Tab. 1.  $R_F$ -Werte von Pteridinen

	n-Butanol/ 5 <i>n</i> Essigsäure (2:1) $R_F$ 254 m $\mu$ 365 m $\mu$	n-Propanol/ 1-proz. NH <sub>3</sub> (2:1) $R_F$ 254 m $\mu$ 365 m $\mu$	4-proz. Natriumcitrat $R_F$ 254 m $\mu$ 363 m $\mu$	3-proz. NH <sub>4</sub> Cl $R_F$ 254 m $\mu$ 363 m $\mu$
IIIa	0.73 B HB	0.59 B HB	0.30 B <sub>L</sub>	0.29 B B <sub>L</sub>
IIIb	0.38 B B	0.30 B B	0.23 B B	0.23 B B
IV	0.92 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>	0.80 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>	0.32 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>	0.23 HB HB
V	0.72 B B	0.65 B B	0.71 B B	0.72 B B
VI	0.14 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>	0.15 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>	0.57 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>	0.62 B <sub>L</sub> B <sub>L</sub>
VIII	0.43 HB HB	0.37 HB HB	0.27 HB HB	0.31 HB HB
IX	0.42 HB B	0.33 HB B	0.33 HB B	0.36 B B
Vergleichssubstanz: 1.3.6-Trimethyl-7-hydroxy- 2.4-dioxo-tetrahydropteridin	0.70 B B	0.50 B B	0.50 B B	0.60 B B

Absteigende Methode auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b Gl. Beim Bestrahlen mit UV-Licht der Wellenlänge  $\lambda = 254$  m $\mu$  bzw. 365 m $\mu$  beobachtet man folgende Fluoreszenzfarben: B = blau, HB = hellblau und B<sub>L</sub> = blau leuchtend.

Tab. 2. Physikalische Konstanten von Pteridinen

	pK-Werte*) in Wasser (20°) Streuung	UV-Absorptionsspektren				pH	Molekülarformel			
		$\lambda_{\max}$ (m $\mu$ )	log $\epsilon_{\max}$							
IIIb	7.8 $\pm$ 0.3	232	280	343	4.04	3.61	4.17	6.0	Neutralmol. 0 Morphoanion --	
		223	258	335 348	4.54	3.77	4.18 4.12	10.0		
IV			230	268	349	4.31	3.88	4.08	CH <sub>3</sub> OH	0
V	7.94 $\pm$ 0.1	[238]	277	335	[3.88]	3.89	3.87	6.0	0	
			250 [274]	346		4.12 [3.48]	3.90	11.0	—	
VI	8.04 $\pm$ 0.02	[238]	277	335	[3.99]	4.05	4.01	6.0	0	
		223	251 [272]	346	4.05	4.27 [3.62]	4.03	11.0	—	
VIII	1.60 $\pm$ 0.1 7.65 $\pm$ 0.1	211	[250]	324	4.28	[3.84]	4.06	0.0	Kation +	
			242	277	350	4.13	4.12	3.91	5.0	0
			256 [280]	363	4.32	[3.67]	3.96	10.0	—	
IX	8.33 $\pm$ 0.02	[241]	278	332	[3.93]	4.02	4.01	6.0	0	
		233	250 [271]	342	3.98	4.26 [3.63]	4.04	11.0	—	

[ ] Schulter \*) Spektrophotometrisch bestimmt.

Herrn Prof. Dr. H. BREDERECK, der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE danken wir recht herzlich für die Unterstützung dieser Arbeit. Ferner gilt unser Dank der chem.-techn. Assistentin Frl. I. FINK für ihre wertvolle Mithilfe bei der Bestimmung der physikalischen Daten.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*2,4-Diamino-5-[carbäthoxy-methylenamino]-6-benzyloxy-pyrimidin (IIa)*: Die Suspension von 2.3 g *2,4,5-Triamino-6-benzyloxy-pyrimidin (Ia)*<sup>7)</sup> in 250 ccm Wasser wird mit 3 g *Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal* 3 Stdn. bei Raumtemp. geschüttelt, der hellgelbe Niederschlag abgesaugt, gewaschen und bei 100° getrocknet (3.3 g). Hellgelbe Kristalle (aus Äthanol) vom Schmp. 202–203°.

C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> (315.3) Ber. C 57.13 H 5.44 N 22.21 Gef. C 57.28 H 5.44 N 21.82

*2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-dihydropteridin (IIIa)*: Die Lösung von 1 g *IIa* in 190 ccm Äthanol wird mit 30 ccm 1 *n* NaHCO<sub>3</sub> 1 Stde. unter Rückfluß gekocht und von wenig Unge- löstem heiß abfiltriert. Das durch Ansäuern des Filtrats mit 20 ccm Eisessig abgeschiedene Pteridin wird nach Abkühlen abgesaugt und aus Benzylalkohol umkristallisiert. Ausb. 0.68 g farblose Kristalle vom Schmp. >360°.

C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (269.3) Ber. C 57.98 H 4.12 N 26.01 Gef. C 57.74 H 4.36 N 26.12

*2,4-Diamino-5-[carbäthoxy-methylenamino]-6-methoxy-pyrimidin (IIb)*: 1 g *2,4,5-Triamino-6-methoxy-pyrimidin (Ib)*<sup>7)</sup>, bei Raumtemperatur in einem Gemisch von 80 ccm Wasser und 10 ccm Methanol teilweise gelöst, wird mit 1.5 g *Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal* 1 Stde. geschüttelt und dann 5 Stdn. stehengelassen. Man saugt den Niederschlag ab, wäscht mit Wasser und wenig Methanol und trocknet bei 80° i. Vak. (1.45 g). Ausb. 1 g gelbliche Kristalle vom Schmp. 220° (Zers.) (aus 500 ccm Äthanol).

C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> (239.2) Ber. C 45.19 H 5.48 N 29.28 Gef. C 45.28 H 5.50 N 29.44

<sup>7)</sup> W. PFLEIDERER und R. LOHRMANN, Chem. Ber. 94, 12 [1961].

*2-Amino-4-methoxy-7-oxo-dihydropteridin (IIIb)*: Die Lösung von 0.7 g *IIb* in 250 ccm Äthanol wird mit 15 ccm 0.5 *n* NaHCO<sub>3</sub> 1½ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Man filtriert heiß und säuert das Filtrat mit Essigsäure bis pH 6 an. Nach Stehenlassen über Nacht wird der Niederschlag abgesaugt, gewaschen und getrocknet (0.42 g). Zur Analyse wird aus Dimethylformamid unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Farblose Kristalle vom Schmp. > 350°.

C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (193.2) Ber. C 43.52 H 3.66 N 36.27 Gef. C 43.25 H 3.89 N 35.74

*2-Amino-4-benzyloxy-7-[2.3.4.6-tetraacetyl-β-D-glucopyranosyloxy]-pteridin (IV)*: Die Lösung von 1 g *IIIa* in 800 ccm Xylol wird bei 110° mit 3 g frisch dargestelltem, trockenem Silbercarbonat versetzt. Zur Entfernung sämtlicher Feuchtigkeit destilliert man etwa 100 ccm Lösungsmittel ab. Dann werden 6 g *α-Acetobromglucose* zugefügt und die Mischung unter starkem Rühren 1¼ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Man filtriert heiß, engt das Filtrat i. Vak. zur Trockne ein, nimmt den sirupösen Rückstand in 30 ccm absol. Methanol auf und filtriert unter Zusatz einer Spatelspitze Hyflo-Super-Cel durch ein hartes Filter. Die methanol. Lösung wird nun 15 Min. unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen kristallisiert die erwartete Verbindung in feinen farblosen Nadelchen aus. Man löst diese in 50 ccm Äthanol, gibt etwas Tierkohle zu, filtriert und versetzt das Filtrat mit Wasser, bis eine leichte Trübung entsteht. Beim Abkühlen scheidet sich das Glucosid ab. Nach mehrtägigem Aufbewahren ergibt die Mutterlauge noch eine zweite Fraktion. Ausb. 1.41 g farblose Nadeln vom Schmp. 172–173°.

C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub> (599.6) Ber. C 54.09 H 4.87 N 11.69 Gef. C 54.11 H 4.74 N 11.83

*2-Amino-7-[2.3.4.6-tetraacetyl-β-D-glucopyranosyloxy]-4-oxo-dihydropteridin (V)*: Schüttelt man 0.93 g *IV*, gelöst in 120 ccm absol. Äthanol, nach Zugabe von 100 mg alkoholfeuchter Pd/Tierkohle bei 40° mit Wasserstoff, so scheidet sich ein gallertiger Niederschlag ab. Nach beendeter Reaktion verdünnt man mit 100 ccm Äthanol, kocht 10 Min. unter Rückfluß und saugt heiß vom Katalysator ab. Der Rückstand wird nochmals mit absol. Äthanol ausgekocht. Durch Abdunsten der beiden Filtrate im Rotationsverdampfer erhält man das gesuchte Produkt in reiner Form. Ausb. 0.76 g farblose Kristalle, die ab 160° leicht sintern und sich ab 180° zersetzen.

C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub> (509.4) Ber. C 47.15 H 4.55 N 13.75 Gef. C 47.23 H 4.69 N 13.54

*2-Amino-7-β-D-glucopyranosyloxy-4-oxo-dihydropteridin (VI)* (Isoxanthopterin-7-O-β-D-glucopyranosid): Die Lösung von 62 mg *V* in 3 ccm ammoniakgesättigtem Methanol läßt man 12 Stdn. bei Raumtemp. stehen, kühlt dann auf 0°, saugt den ausgeschiedenen Niederschlag ab und trocknet i. Hochvak. bei 80° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: Ammoniumsalz von *VI*.

C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub> (358.3) Ber. N 23.46 Gef. N 23.13

Zur Gewinnung der freien Verbindung wird die Suspension des Ammoniumsalzes in 2 ccm Wasser mit 1-proz. Essigsäure auf pH 6.3 gebracht, mehrmals gut umgeschüttelt und 30 Min. später abgesaugt. Ausb. 28.8 mg farblose Kristalle (aus Wasser), die sich ab 212° unter Braunfärbung zersetzen.

C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> (341.3) Ber. C 42.23 H 4.42 N 20.53 Gef. C 41.92 H 4.25 N 20.10

*7-Chlor-2-amino-4-oxo-dihydropteridin (VIII)*: 2 g Isoxanthopterin (*VII*) werden mit 10 g PCl<sub>5</sub> und 100 ccm POCl<sub>3</sub> 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach etwa 1 Stde. ist Lösung eingetreten. Nach beendeter Reaktion zieht man das überschüssige POCl<sub>3</sub> ab, gießt den sirupösen Rückstand auf Eis und versetzt die stark saure Lösung unter Kühlen vorsichtig mit 5 *n* KOH bis pH 0–1, dann mit festem NaHCO<sub>3</sub> bis pH 5. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet (3.1 g). Das Produkt wird mit Wasser kurz aufgekocht, der Niederschlag nach Abkühlen gesammelt, bei Raum-

temp. in verd. Natronlauge gelöst und das Filtrat nach Behandeln mit Aktivkohle tropfenweise siedender verd. Essigsäure zugefügt. Schon in der Siedehitze scheidet sich ein gelblicher Niederschlag ab. Man läßt abkühlen, saugt ab, wäscht mit Wasser und trocknet bei 100°. Ausb. 1.5 g gelbliche Kristalle vom Schmp. >330°.

$C_6H_4ClN_5O$  (197.6) Ber. C 36.45 H 2.04 Cl 17.91 Gef. C 36.46 H 2.22 Cl 17.86

*2-Amino-7-methoxy-4-oxo-dihydropteridin (IX)*: Eine Aufschlammung von 0.47 g VIII in 10 ccm absol. Methanol versetzt man unter Schütteln portionenweise mit einer Lösung von 115 mg Natrium in 50 ccm absol. Methanol. Dann wird 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht, heiß von wenig Ungelöstem abfiltriert und das warme Filtrat tropfenweise mit Eisessig schwach angesäuert. Man läßt abkühlen, saugt den Niederschlag ab, wäscht mit Wasser, trocknet bei 100° (0.44 g) und kristallisiert aus 330 ccm reinem Dimethylformamid unter Zugabe von etwas Aktivkohle um. Ausb. 0.28 g gelbliche Kristalle vom Schmp. >350°.

$C_7H_7N_5O_2$  (193.2) Ber. C 43.52 H 3.66 N 36.27  $OCH_3$  16.07  
Gef. C 43.35 H 3.88 N 35.70  $OCH_3$  15.83

---