

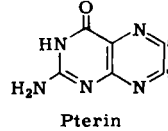
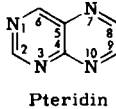
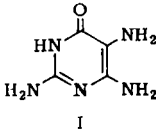
FRIEDRICH WEYGAND, HELMUT SIMON, KARL DIETHER KEIL
und HANS MILLAUER

Pterine aus 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin und Zuckern*

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München
(Eingegangen am 28. Oktober 1963)

Die Pterine, die bei der Kondensation von 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin (I) mit Glucose bzw. Ribose mit oder ohne Hydrazinzusatz entstehen, wurden papierchromatographisch getrennt und weitgehend identifiziert. Es sind neben den 8/9-isomeren Tetra- und Trihydroxy-butyl-pterinen bzw. den Tri- und Dihydroxy-propyl-pterinen vor allem 8-Polyhydroxyalkyl-9-methyl-pterine und 9-Methyl-pterin. — Der komplizierte Reaktionsablauf und die Vielfalt der Reaktionsprodukte wird gedeutet. — Unter speziellen Bedingungen lassen sich vier Pterinderivate ohne schwierige Reinigungsoperationen isomerenfrei darstellen: 1. 9-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin, 2. 8-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin, 3. 8-[1'.2'-Dihydroxy-äthyl]-9-methyl-pterin und 4. 2-Acetamino-4-hydroxy-9-[3'.4'-diacetoxy-buten-(1')-yl]-pteridin. — Bei der katalytischen Hydrierung von 9-Polyhydroxyalkyl-pterinen tritt eine stufenweise Eliminierung der Hydroxylgruppen der Seitenkette ein.

Pteridin und Pterin werden nach der sog. deutschen Bezifferung numeriert:



Verzeichnis der isolierten Verbindungen:

- II-8 = 8-[1'.2'.3'.4'-Tetrahydroxy-butyl]-pterin
- II-9 = 9-[1'.2'.3'.4'-Tetrahydroxy-butyl]-pterin
- III-8 = 8-[2'.3'.4'-Trihydroxy-butyl]-pterin
- III-9 = 9-[2'.3'.4'-Trihydroxy-butyl]-pterin
- IV = 8-[1'.2'.3'-Trihydroxy-propyl]-9-methyl-pterin
- V = 9-[2'-Hydroxy-äthyl]-pterin
- VI = 9-Methyl-pterin
- VII-8 = 8-[1'.2'.3'-Trihydroxy-propyl]-pterin
- VII-9 = 9-[1'.2'.3'-Trihydroxy-propyl]-pterin
- VIII-8 = 8-[2'.3'-Dihydroxy-propyl]-pterin
- VIII-9 = 9-[2'.3'-Dihydroxy-propyl]-pterin
- IX-8 = 8-[1'.2'-Dihydroxy-äthyl]-9-methyl-pterin
- IX-9 = 9-[1'.2'-Dihydroxy-äthyl]-8-methyl-pterin
- X = „Zwischenprodukt“ aus Glucose und I
- XI = 2-Acetamino-6-hydroxy-9-[3'.4'-diacetoxy-buten-(1')-yl]-pteridin
- XII = 9-[3'.4'-Dihydroxy-buten-(1')-yl]-pterin
- XIII = 9-[3'.4'-Dihydroxy-butyl]-pterin
- XIV = 9-[4'-Hydroxy-butyl]-pterin
- XV = 9-Butyl-pterin

*) Auszugsweise vorgetragen auf dem III. Internat. Pteridin-Symposium in Stuttgart im Sept. 1962.

Die Bildung substituierter Pterine aus 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin (I) und Zuckern, sowie allgemein aus α -Hydroxy- oder α -Halogen-carbonyl-Verbindungen, ist nicht nur wichtig für Synthesen der Folsäure und der in der Natur vorkommenden Hydroxyalkylpterine, sondern auch wegen der engen Beziehungen zur Biogenese der Pterine interessant¹⁾.

Die Umsetzung von I mit Zuckern wurde vor allem in den Jahren 1947–1949 von mehreren Arbeitskreisen untersucht. Man fand bei Verwendung von Aldosen oder Ketosen 8- und 9-Polyhydroxyalkyl-pterine^{2–8)} neben 1'-Desoxy-Verbindungen^{6,7)}. Mit Hilfe der UV-Spektren, der optischen Drehung, der Darstellung von Acetyl-derivaten sowie der Oxydation zu Pterin-carbonsäuren suchte man zu ermitteln, welche Reaktionsbedingungen die Bildung der einzelnen Isomeren begünstigen.

Die meisten der zitierten Arbeiten besitzen heute nur noch beschränkten Wert, da nicht erkannt worden war, daß eine Vielfalt von Pterinen entstehen kann.

Wir haben die Untersuchungen über die Umsetzung von I mit Zuckern zu Pterinen mit folgenden Fragestellungen nochmals aufgenommen:

1. Welche Struktur besitzen die zahlreichen unter den früher angewandten Kondensationsbedingungen gebildeten Pterine und in welchen Mengenverhältnissen fallen sie an?
2. Gibt es Reaktionsbedingungen, unter denen sich Pterine ohne komplizierte Trennungsoperationen in chromatographisch einheitlicher Form darstellen lassen?
3. Warum entstehen mehrere Reaktionsprodukte?

PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE UND IDENTIFIZIERUNG DER PTERINE

Wird I nach KARRER und Mitarbb.²⁾ in schwach essigsaurer Lösung mit Hexosen kondensiert, so können die ausgefallenen Pterine durch Chromatographie in n-Propanol/Ammoniak oder n-Butanol/Essigsäure/Wasser in fünf Hauptanteile A bis E getrennt werden, wobei A, B und C vorherrschen. Kondensiert man Glucose mit I in Acetat- oder Phosphat-Puffer (pH 4–5), so besteht das Pteringemisch aus etwa gleichen Teilen A bis E. Außerdem treten Pterincarbonensäuren und Isoxanthopterin in sehr geringen Mengen auf. Die quantitative Analyse wurde durch Chromatographie in Streifen, Extraktion der Pterine und Messung der UV-Extinktion vorgenommen. Ergebnisse siehe Tab. 1.

Durch Oxydation der einzelnen Eluate zu Pterincarbonensäuren, die papierchromatographisch getrennt und mit Hilfe von Vergleichssubstanzen identifiziert wurden, konnte

- 1) F. WEYGAND, H. SIMON, G. DAHMS, M. WALDSCHMIDT, J. SCHLIEP und H. WACKER, *Angew. Chem.* **73**, 402 [1961]; H. SIMON, F. WEYGAND, J. WALTER, H. WACKER und K. SCHMIDT, *Z. Naturforsch.* **18b**, 757 [1963].
- 2) P. KARRER, R. SCHWYZER, B. ERDEN und A. SIEGWART, *Helv. chim. Acta* **30**, 1031 [1947].
- 3) P. KARRER und R. SCHWYZER, *Helv. chim. Acta* **31**, 777, 782 [1948]; **32**, 423, 1041 [1949].
- 4) H. G. PETERING und D. J. WEISBLAT, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 2567 [1947]; H. G. PETERING und J. A. SCHMITT, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 3977 [1949].
- 5) H. S. FORREST und J. WALKER, *Nature* [London] **161**, 308, 721 [1948]; *J. chem. Soc.* [London] **1949**, 79, 2077; H. S. FORREST und H. K. MITCHELL, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 4865 [1955].
- 6) F. WEYGAND, A. WACKER und V. SCHMIED-KOWARZIK, a) *Experientia* [Basel] **4**, 427 [1948]; b) *Chem. Ber.* **82**, 25 [1949].
- 7) R. B. ANGIER und Mitarbb., *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 3029 [1948].
- 8) G. HENSEKE und M. WINTER, *Chem. Ber.* **89**, 956 [1956].

Tab. 1. Pterine aus Glucose und 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin (I).
 R_F -Werte bezogen auf 8-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin = 0.16

Chromatogramm-fleck	R_F -Wert n-Propanol/ Ammoniak	Pterincarbonsäure durch		Mol-% im Gesamt- pterin ^{a)}	Struktur
		milde	starke		
		Permanganat- Oxydation			
A	0.16	Carbonsäure-(8) (5 Teile) + Carbonsäure-(9) (95 Teile)		22	8-[Tetrahydroxy-butyl]- pterin (II-8) 9-[Tetrahydroxy-butyl]- pterin (II-9)
B	0.21	Carbonsäure-(9)		26	9-[2'.3'.4'-Trihydroxy- butyl]-pterin (III-9) ^{b)}
C	0.26	9-Methyl- carbon- säure-(8)	Dicarbon- säure-(8.9)	26	8-[Trihydroxy-propyl]- 9-methyl-pterin (IV)
D	0.30	Carbonsäure-(9)		14	9-[2'-Hydroxy-äthyl]-pterin (V)
E	0.34	unver- ändert	Carbon- säure-(9)	12	9-Methyl-pterin (VI)

a) Unter der Annahme gleicher Extinktion berechnet.

b) Fleck B enthält auch geringe Mengen an 9-[3'.4'-Dihydroxy-buten-(1')-yl]-pterin.

jeweils bestimmt werden, ob 8- oder 9- bzw. 8- und 9-substituierte Pterine und deren Gemische vorlagen.

Das Eluat von Fleck A lieferte viel Pterin-carbonsäure-(9) neben wenig Pterin-carbonsäure-(8), die Eluate von B und D nur die 9-Carbonsäure. Das Pterin aus Fleck C ergab bei milder Oxydation mit Permanganat 9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8), bei starker Oxydation Pterin-dicarbon-säure-(8.9). Das Pterin aus Fleck E schließlich blieb bei milder Oxydation unverändert, ging hingegen bei starker Oxydation in Pterin-carbonsäure-(9) über. Nachdem somit die Stellung der Seitenketten feststand, wurden sie identifiziert. A ist ein Gemisch aus 8- und 9-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin (II-8 + II-9), das unter den angewandten papierchromatographischen Bedingungen nicht getrennt wird. Dies wurde durch Mischen der reinen Verbindungen bestätigt, die sich auch bei Anwendung anderer Laufmittel nicht trennten (s. Versuchsteil). Sie zeigten stets denselben R_F -Wert wie A. Das Pterin aus B ist III-9, dessen R_F -Wert in n-Propanol/Ammoniak für nur drei Hydroxylgruppen spricht. Außerdem führte die Umsetzung von 3-Tosyl-D-glucose mit I vorwiegend zu III-9, was auf Grund der weiter unten zu erörternden Bildungsweise infolge der besseren Eliminierbarkeit des Tosylrestes gegenüber einer Hydroxylgruppe verständlich ist. Ferner wurde III-9 als Hauptprodukt aus 1-[p-Toluidino]-1-desoxy-D-fructose erhalten, dessen Struktur bereits früher^{6b)} durch Abbau zum Pterin-acetaldehyd-(9) bewiesen worden war.

C besteht aus dem Pterin IV, dessen Zuordnung auf dem in der Pentosereihe isolierten IX-8 (vgl. weiter unten) basiert, sowie dem papierchromatographischen Verhalten im Vergleich zu IX-8.

In D liegt das Pterin V vor. Es zeigt mit verschiedenen Laufmitteln dieselben R_F -Werte wie V, das bei der Kondensation von D-Erythrose mit I neben 9-[Dihydroxy-äthyl]-pterin, 8-[Hydroxy-äthyl]-9-methyl-pterin und VI anfiel.

E ist 9-Methyl-pterin (VI). Ein authentisches Präparat zeigt dasselbe Verhalten bei milder und starker Permanganatoxydation, ferner denselben R_F -Wert mit verschiedenen Laufmitteln.

Das aus I und D-Ribose in schwach essigsaurer Lösung²⁾ erhaltene Pteringemisch ließ sich papierchromatographisch in zwei Hauptfraktionen (G und H) sowie zwei Nebenfraktionen (F und J) auftrennen. Die Identifizierung und die Bestimmung der Mengenverhältnisse (s. Tab. 2) wurde wie bei den aus Glucose erhaltenen Pterinen vorgenommen.

Tab. 2. Pterine aus Ribose und 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin (I).
 R_F -Werte bezogen auf 8-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin = 0.16

Chromatogramm-fleck	R_F -Wert n-Propanol/ Ammoniak	Pterincarbon-säure durch		Mol-% im Gesamt- pterin	Struktur
		milde Permanganat- Oxydation	starke		
F	0.21	Carbonsäure-(9)		12	9-[Trihydroxy-propyl]- pterin (VII-9)
G	0.27	Viel Carbonsäure-(9) + wenig Carbonsäure-(8)		60	9-[2'.3'-Dihydroxy-propyl]- pterin (VIII-9) und 8-[2'.3'-Dihydroxy- propyl]-pterin (VIII-8)
H	0.30	9-Methyl- carbon- säure-(8)	Dicarbon- säure-(8.9)	21	8-[Dihydroxy-äthyl]- 9-methyl-pterin (IX-8)
J	0.34	unver- ändert	Carbon- säure-(9)	7	9-Methyl-pterin (VI)

Da bei der Kondensation von Glucose mit *o*-Phenylendiamin durch Hydrazinzusatz eine wesentlich höhere Ausbeute an [Tetrahydroxy-butyl]-chinoxalin erhalten worden war^{9,10)}, und dasselbe auch bei der Pterinbildung aus Zuckern festgestellt wurde^{3,5,6)}, haben wir auch die aus Glucose und Fructose mit I unter Hydrazinzusatz entstandenen Pterine näher untersucht. Es bilden sich vorzugsweise II-8 und II-9 sowie III-8 und III-9 (s. Tab. 3). Hierbei überwiegen die 8-Isomeren in jedem Falle bei weitem, von einer absoluten Reaktionslenkung kann jedoch keine Rede sein. Die in den Flecken C, D und E enthaltenen Pterine treten nur spurenweise auf.

Tab. 3. Pterine aus D-Glucose bzw. D-Fructose und 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin (I) unter Hydrazinzusatz. R_F -Werte bezogen auf 8-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin = 0.16

Zucker	Chromatogramm-fleck	R_F -Wert	Pterin- carbon- säure-(8) %	Pterin- carbon- säure-(9) %	% im Gesamt- pterin	Verbindung
Glucose	A	0.16	>85	<15	52	II-8 + II-9
	B	0.21	>72	<28	48	III-8 + III-9
Fructose	A	0.16	>77	<23	55	II-8 + II-9
	B	0.21	>76	<24	45	III-8 + III-9

⁹⁾ H. OHLE und M. HIELSCHER, Ber. dtsch. chem. Ges. 74, 13 [1941].

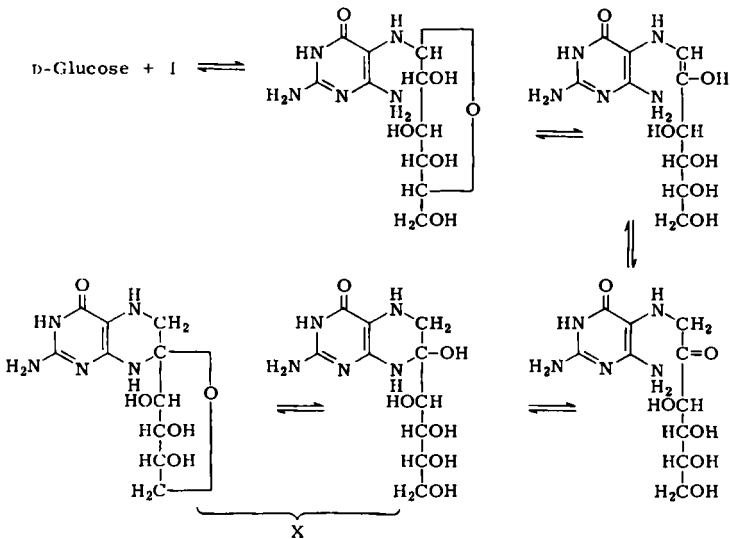
¹⁰⁾ F. WEYGAND und A. BERGMANN, Chem. Ber. 80, 255 [1947].

D-Ribose mit I unter Hydrazinzusatz umgesetzt, ergibt ein Gemisch von F und G neben wenig H, wobei ebenfalls 8-substituierte Verbindungen in wesentlichen Anteilen gebildet wurden¹¹⁾.

ZWISCHENPRODUKT AUS GLUCOSE UND I

Bei der Kondensation von Glucose mit I gelang die Isolierung eines Zwischenproduktes (X). Es fiel nach dem Erhitzen der Komponenten in Phosphatpuffer vom pH 4–5 unter Stickstoff in 80-proz. Ausbeute an. Das UV-Spektrum entspricht dem eines Tetrahydropterins. In alkalischer Lösung geht es rasch in 9-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin (II-9) über. Mit Perjodat bildet sich unter Verbrauch von 4 Moll. der Pterinaldehyd-(9) neben wenig Isoxanthopterin. Die Elementaranalyse spricht wie das Absorptionsspektrum für ein Tetrahydropterin-Derivat, ein kristallines Mono- und ein Pentaacetat lassen sich gewinnen.

Stellt man X in tritiummarkiertem Wasser her, so wird Tritium stabil eingebaut, was für das Ablaufen einer Amadori-Umlagerung spricht. Bemerkenswert ist, daß nicht-markiertes, in reiner Form isoliertes X beim Erhitzen in Phosphatpuffer mit ¹⁴C-markiertem I einen Austausch der Pyrimidinbasen erleidet, denn nach der Wiederisolierung von X und der Dehydrierung zu II-9 enthält dieses bis zu 18% des theoretisch möglichen ¹⁴C-Gehaltes. Der Austausch der Pyrimidinbase kann nur durch Gleichgewichtseinstellungen einschließlich einer Retro-Amadori-Umlagerung erklärt werden. Wir schlagen auf Grund dieser Ergebnisse den folgenden Bildungsweg und eine vorläufige Struktur für X vor.



¹¹⁾ Aus derartigen Ansätzen wurden durch spezielle chromatographische Verfahren 8-[Trihydroxy-propyl]-pterine in reiner Form isoliert: H. REMBOLD und H. METZGER, Chem. Ber. 96, 1395 [1963]; H. REMBOLD und L. BUSCHMANN, ebenda 96, 1406 [1963].

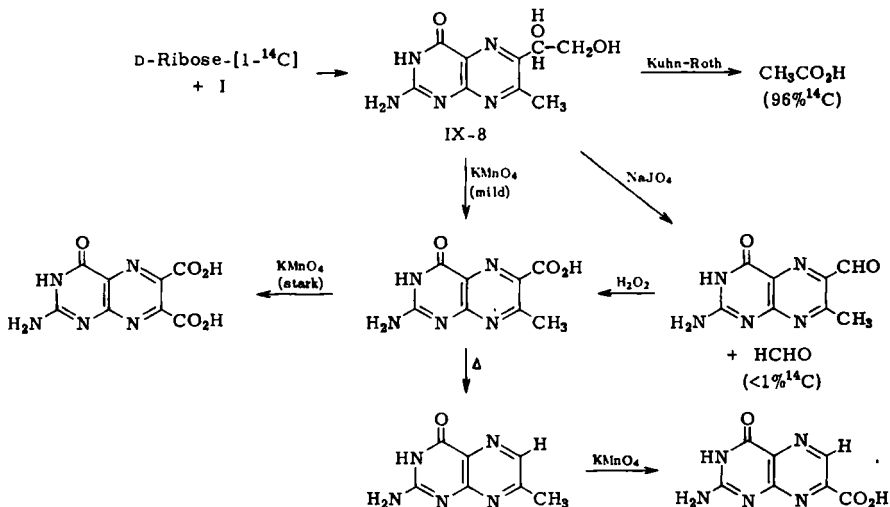
DARSTELLUNG UND STRUKTUR EINHEITLICHER PTERINE

1. Das im vorigen Abschnitt beschriebene Zwischenprodukt X läßt sich in Natriumhydrogencarbonatlösung unter Durchleiten von Luft in 70-proz. Ausb. in reines II-9 überführen.

2. Die Chromatographie des aus 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-D-fructose¹²⁾ und I unter Hydrazinzusatz^{6b)} erhaltenen Pterins sowie die Oxydation zur chromatographisch reinen Pterin-carbonsäure-(8) zeigt, daß es sich um einheitliches II-8 handelt. Dies stellten auch schon H. S. FORREST und J. WALKER¹³⁾ fest.

3. Bei der Kondensation von Aldopentosen, insbesondere von D-Ribose mit I in Acetat- oder Phosphat-Puffer vom pH 4–5 fällt in reiner Form IX-8 an. Milde Permanganatoxydation liefert 9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8) und stärkere Permanganatoxydation die Pterin-dicarbonsäure-(8.9). Erstere läßt sich zu 9-Methylpterin decarboxylieren, das bei erneuter Oxydation reine Pterin-carbonsäure-(9) ergibt.

Durch Verwendung von D-Ribose-[1-¹⁴C] konnte die Herkunft der Methylgruppe in IX-8 geklärt werden. Das erhaltene radioaktive IX-8 wurde nach KUHN-ROTH oxydiert. Die gebildete Essigsäure hat 96% der Ausgangsaktivität. Unter Verbrauch von 1 Mol. Perjodat entsteht Formaldehyd, der weniger als 1% der Radioaktivität enthält. Nach diesen Versuchen geht die Methylgruppe ausschließlich aus C-1 der Ribose hervor:

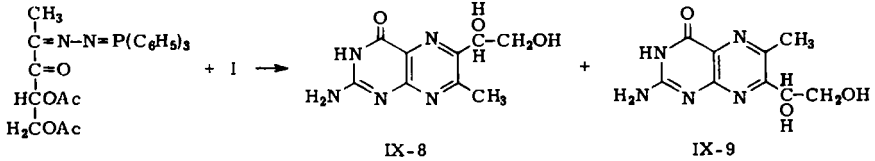


Zum weiteren Strukturbeweis von IX-8 wurde ein Gemisch von optisch inaktivem IX-8 und IX-9 auf folgendem Wege hergestellt¹⁴⁾:

¹²⁾ R. KUHN und F. WEYGAND, Ber. dtsh. chem. Ges. 70, 769 [1937], F. WEYGAND, ebenda 73, 1259 [1940]; in diesen Veröffentlichungen ist die Verbindung *p*-Tolyl-D-isoglucosamin genannt.

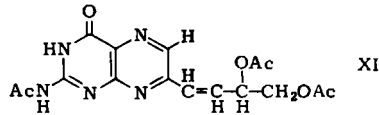
¹³⁾ J. chem. Soc. [London] 1949, 79.

¹⁴⁾ Zur Darstellung von α -Keto-triphenylphosphazinen aus Diazoketonen: H. J. BESTMANN, H. BUCKSCHEWSKI und H. LEUBE, Chem. Ber. 92, 1345 [1959]; zur Darstellung von Pterinen hieraus: Dissertat. G. APEL, Techn. Univ. Berlin 1958, Dissertat. H. LEUBE, Techn. Univ. Berlin 1958; vgl. auch F. WEYGAND und H. J. BESTMANN, Angew. Chem. 72, 535 [1960].



Das Gemisch ließ sich papierchromatographisch nicht trennen und zeigte in allen Laufmitteln denselben R_f -Wert wie reines IX-8. Nach Oxydation mit Permanganat war hingegen das Gemisch der 9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8) und 8-Methyl-pterin-carbonsäure-(9) gut trennbar.

4. Die Acetylierung des aus 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-D-fructose und I in essigsaurer Lösung erhaltenen Pteringemisches mit Acetanhydrid/Pyridin ergibt in Aceton das schwer lösliche Pteridin XI. Auch aus dem mit Glucose erhaltenen Pteringemisch läßt sich dieselbe Verbindung in geringerer Ausbeute isolieren; in der Mutterlauge befinden sich andere, nicht kristallisierende Acetylverbindungen.



Im Einklang mit der Struktur XI steht die Elementaranalyse und der massenspektroskopisch gefundene Molekularpeak bei 375 sowie das Protonenresonanzspektrum. Das UV-Spektrum zeigt eine bathochrome Verschiebung der langwelligen Pterinbande, die durch Bromaddition aufgehoben wird. Analytisch lassen sich drei Acetylgruppen nachweisen.

Das Verseifungsprodukt XII, das sich papierchromatographisch mit Ammoniumcitrat als Laufmittel auch im Pteringemisch vor der Acetylierung nachweisen ließ, war nicht ganz einheitlich. Es zeigt ebenfalls die bathochrome Verschiebung der langwelligen Pterinbande, die durch Bromaddition aufgehoben wird. Mit Permanganat entsteht schon in der Kälte Pterin-carbonsäure-(9).

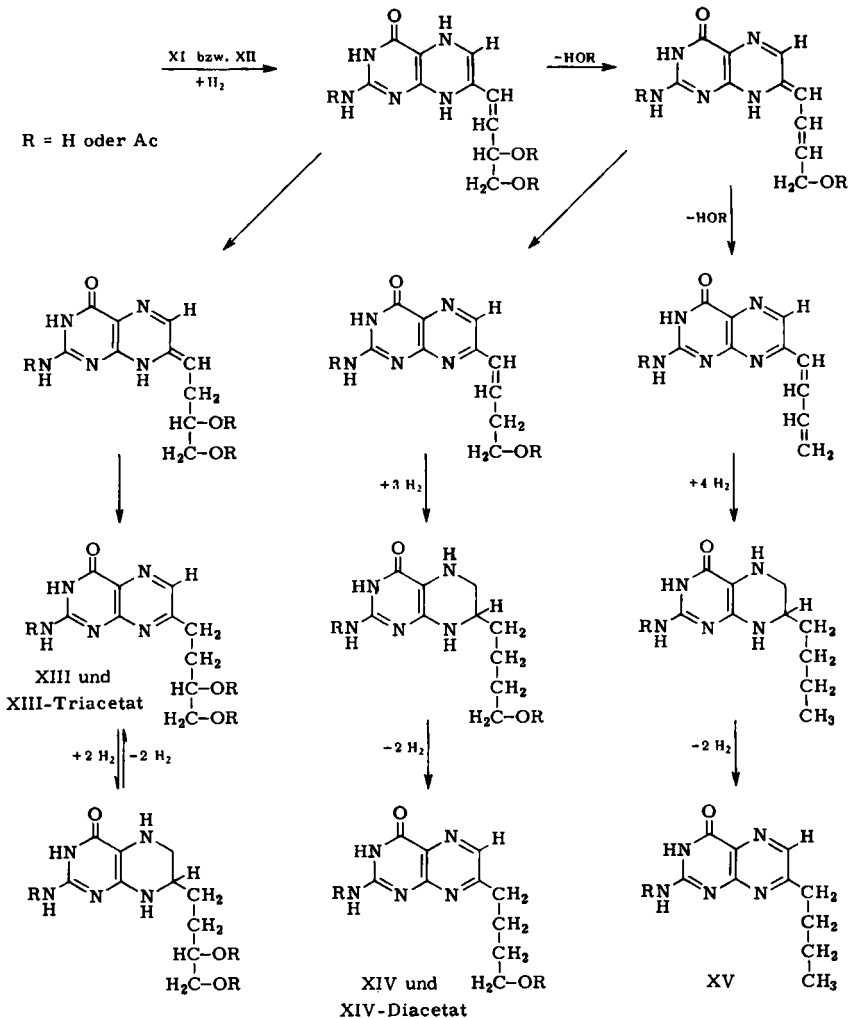
HYDRIERUNG 9-SUBSTITUIERTER HYDROXYALKYL-PTERINE

Bei der katalytischen Hydrierung von XII werden knapp 3 Moll. Wasserstoff aufgenommen. Nach anschließender Dehydrierung wird ein Pteringemisch von XIII neben XIV und XV erhalten. Die Triacetylverbindung XI hingegen nimmt bei der katalytischen Hydrierung 4 Moll. H_2 auf und liefert nach der Dehydrierung und Verseifung hauptsächlich XIV und XV neben XIII. Die Pterine XIII bis XV wurden chromatographisch nachgewiesen. XIII läßt sich mit Perjodat spalten, XIV und XV hingegen nicht. XV ist im Gegensatz zu XIII und XIV gegen milde Permanganatoxydation resistent.

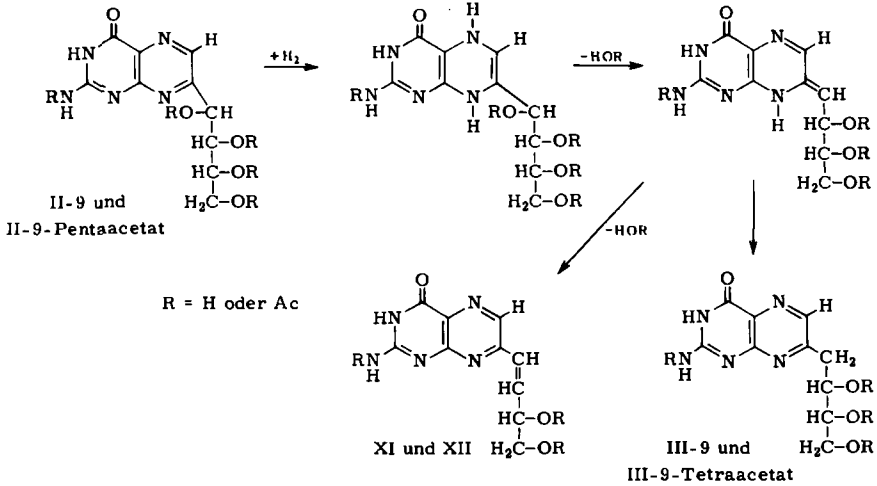
Dieselben Pterine XIII, XIV und XV fallen neben III-9 und anderen nicht identifizierten Pterinen bei der Hydrierung von II-9 sowie dessen Pentaacetylverbindung nach anschließender Dehydrierung an. Aus II-9 wird vorwiegend III-9 erhalten, während das Pentaacetat von II-9 wesentlich mehr XIII, XIV und XV liefert. Dies

zeigt sich im Wasserstoffverbrauch sowie durch die relativen Fluoreszenzintensitäten der Chromatogrammflecke. Ein Vergleichsgemisch von XV und seinem 8-Isomeren wurde aus I und Hexandion-(1.2)-triphenylphosphazin-(1) dargestellt. Das Gemisch zeigte dieselben R_F -Werte sowie die zu erwartende schwere Oxydierbarkeit mit Permanganat.

Die gefundenen Umwandlungen der Pterinseitenkette bei der Hydrierung von II-9 und XII sowie deren Acetylderivaten läßt sich mit einer Folge von Wasser- bzw. Essigsäure-Eliminierungen aus der 1.4- bzw. 1.6-Stellung der intermediär entstehenden Dihydropterine erklären. Für die Verbindungen XI und XII läßt sich das Reaktionsgeschehen folgendermaßen zusammenfassen:

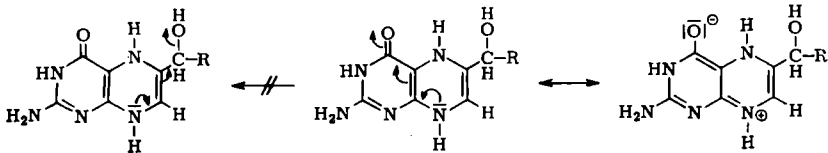


Bei der Hydrierung des Pterins II-9 bzw. dessen Pentaacetats werden zunächst die 1'-Desoxyverbindungen sowie das 1'-Butenyl-pterin gebildet, von denen letzteres nach obigem Schema weiter reagiert.



Da die Hydroxygruppe schwerer eliminierbar ist als die Acetoxygruppe, fallen bei Einsatz der Acetylderivate weit mehr Pterine an, die keine, nur eine oder zwei Hydroxylgruppen in der Seitenkette enthalten.

Erwähnenswert ist die Tatsache, daß bei der Hydrierung von II-8 und dessen Pentaacetat die beschriebenen Eliminierungen nicht oder höchstens in untergeordnetem Maße nachweisbar sind. Dies wird verständlich, wenn man bedenkt, daß in einer 7.10-Dihydroform das Elektronenpaar am N-10 auch an folgender Mesomerie beteiligt ist und die Elektronenverschiebung in der zur Eliminierung notwendigen Richtung erschwert:



VORSTELLUNGEN ÜBER REAKTIONSMECHANIEN UND DEUTUNG DER VIELFALT DER REAKTIONSPRODUKTE

KARRER²⁾ nahm bei der Pterinbildung aus Zuckern und I in Analogie zur Chinoxalinalbildung¹⁵⁾ aus Zuckern und *o*-Phenylendiamin auch eine Amadori-Umlagerung an. Das durch Ringschluß hervorgehende Dihydropterin wird zum Pterin dehydriert.

Die Beteiligung der Amadori-Umlagerung konnte bei der Pterinbildung (mit oder ohne Hydrazinzusatz) nachgewiesen werden¹⁶⁾. Wird Glucose oder Ribose mit I in

¹⁵⁾ F. WEYGAND, Ber. dtsh. chem. Ges. 73, 1259 [1940].

¹⁶⁾ K. D. KEIL, Dissertat., Techn. Hochschule München 1961.

tritiummarkiertem Wasser kondensiert, so zeigt das durch Oxydation erhaltene und gereinigte Gemisch der Pterin-carbonsäuren-(8) und -(9) bis zu 11% Tritiumeinbau. Der Gegenversuch mit Glucose-[1-T] bzw. Ribose-[1-T] ergibt Tritiumverluste zwischen 4 und 40%.

Die Beobachtung, daß bei der Umsetzung von I mit Glucose nach 90 Min. Reaktionsdauer in Puffer vom pH 4–5 auf dem siedenden Wasserbad mindestens 80% des eingesetzten Pyrimidins in das Zwischenprodukt X übergegangen sind und daß höchstens 5% Pterine vorliegen, deutet auf eine hohe Stabilität von X hin. Die Annahme, daß die meisten der entstehenden Pterine aus X hervorgehen, ist berechtigt, denn nach mehrstündigem Erhitzen von isoliertem X in Acetatpuffer fallen die Pterine II–VI an. Es sind mehrere Reaktionsschritte beteiligt, die teils hintereinander, teils nebeneinander ablaufen. Fünf Einzelreaktionen erklären die Vielfalt der Endprodukte:

1. Die Reaktion einer Aminogruppe mit einer Carbonylgruppe oder deren Enolform.
2. Die Enolisierung zwischen C-1 und C-2 und anderen C-Atomen der Zuckerkette.
3. Eine Abspaltung von HX (X = OH, NHR) aus einer Allylstellung (1.4-Eliminierung) oder vinylogen Allylstellung (1.6-Eliminierung).
4. Die Dehydrierung eines Dihydropterins.
5. Die Spaltung einer zur C=N-Bindung α,β - bzw. vinylogen γ,δ -ständigen C–C-Bindung der Zuckerkette (Dealdolisierung).

Diese fünf Reaktionsschritte zeigen, daß I in doppelter Funktion im Spiele ist und Zuckerumwandlungsprodukte erzeugt und abfängt.

Im einzelnen lassen sich folgende Überlegungen anstellen (vgl. das Formelschema auf S. 1013 *):

Die Kondensation von I mit einer Aldose beginnt zweifelsohne an der stärker nucleophilen 5-ständigen Aminogruppe¹⁷⁾ des Pyrimidins. Dies wird dadurch bewiesen, daß sich aus dem isolierbaren Zwischenprodukt X bei der Dehydrierung nur das Pterin II-9 bildet.

Der Einbau von stabil gebundenem Tritium in das Zwischenprodukt beweist das Ablaufen der Amadori-Umlagerung, sei es über die Schritte $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3 \rightarrow X$ oder $1 \rightarrow 2 \rightarrow X$. Diese Reaktionen sind mit denen der Osazonbildung verwandt¹⁸⁾.

Der Enolform 2 kommt sicherlich eine zentrale Bedeutung zu, denn sie kann, sei es direkt oder über 3, in X übergehen. Aus X entsteht durch Wasserabspaltung und Dehydrierung II-9. Andererseits ist auch die Reaktionsfolge $2 \rightarrow 4 \rightarrow$ II-9 möglich.

Für die Bildung des 1'-Desoxyproduktes III-9 sind wiederum zwei Wege denkbar, zwischen denen nicht entschieden werden kann: Die Reaktionsfolge $2 \rightarrow 4 \rightarrow 7 \rightarrow$ III-9 entspricht der früher geäußerten Vorstellung⁶⁾, daß Wasser aus der 1.4-Stellung des

*) Mit römischen Ziffern werden isolierte Produkte, mit arabischen die postulierten Zwischenstufen bezeichnet.

¹⁷⁾ W. PFLEIDERER, Chem. Ber. 88, 1625 [1955].

¹⁸⁾ F. WEYGAND, H. SIMON und J. F. KLEBE, Chem. Ber. 91, 1567 [1958]; H. SIMON, K. D. KEIL und F. WEYGAND, Chem. Ber. 95, 17 [1962].

primär gebildeten Dihydropterins eliminiert wird. Andererseits kann auch eine Wasserabspaltung aus 2 über 5 zu der einem 3-Desoxy-hexoson entsprechenden Zwischenstufe 6 führen, die zu III-9 kondensiert.

Von 5 aus kann durch eine zweite Wasserabspaltung XII gebildet werden, sei es, daß zunächst 8 entsteht und dann der Ringschluß erfolgt, sei es, daß der Ringschluß zunächst zu 7 erfolgt und dann erst Wasser abgespalten wird. In diesem Zusammenhang finden sich Parallelen in den Arbeiten von E. F. L. J. ANET¹⁹⁾, der aus Diketosylaminosäuren 3-Desoxy-hexoson (entsprechend unserer Stufe 6) und das 3,4-ungesättigte Hexoson (entsprechend unserer Stufe 8) erhalten hat.

Wie kommt es nun zur Bildung der 9-Methylverbindungen IV und VI²⁰⁾? Die Schlüsselreaktion ist offenbar der Schritt 10 → 12, bei dem unter 1,4-Eliminierung eine Öffnung des Tetrahydropyrazinringes erfolgt. Der erneute Ringschluß der freien Aminogruppe in 12 mit der Carbonylgruppe an C-3 des Zuckerrestes führt über 13 zum Endprodukt IV. Diese Vorstellungen sind mit dem schon erwähnten Experiment mit Ribose-[1-¹⁴C] im Einklang, wonach die Methylgruppe in 9-Stellung ausschließlich aus dem aldehydischen C-Atom der Ribose stammt. Außerdem ergeben sich Analogien zu der Bildung von Piperidino-hexose-reduktion aus Glucose und Piperidin²¹⁾.

Die Zwischenstufe 10 kann ihrerseits aus den Zwischenprodukten 4, 9 oder 11 hervorgehen. Die Bildung von VI erklärt sich durch eine Dealdolisierung (Ohle-Spaltung)²²⁾ am Dihydropterin 11, die über 14 durch Eliminierung von Wasser zu 15 und von dort durch Tautomerisierung zu VI führt.

Analog führt die Dealdolisierung von 7 zu V.

Zu den Pentosen übergehend sei zunächst die Tatsache hervorgehoben, daß aus Glucose und I unter den angegebenen Bedingungen innerhalb von 5 Stdn. nur 10% Pterine anfallen, daß aber mit Ribose unter denselben Bedingungen bereits nach 3 Stdn. 60–90% der möglichen Pterinmenge vorliegt. Wir möchten daraus folgern, daß ein Zwischenprodukt aus Ribose und I, das X analog ist, weit labiler sein muß, vermutlich weil in ihm nur der weniger stabile furanoide Ring möglich ist. Das starke Hervortreten der 1'-Desoxy- und der 9-Methyl-pterine (s. Tab. 2) könnte damit zusammenhängen.

Wenig geklärt ist die Bildungsweise der 8-substituierten Pterine aus Glucose und I, die allerdings nur in geringem Umfang auftreten (s. Tab. 1). Es kann an eine teilweise Epimerisierung der Glucose zu Ketose gedacht werden, wie sie bei der Umsetzung von Glucose mit Piperidin in essigsaurer Lösung²³⁾ festgestellt wurde.

Besser verständlich ist die Bildung von überwiegend 8-substituierten Pterinen in der Hexosereihe bei Kondensation unter Hydrazinzusatz. Wir möchten uns hier den

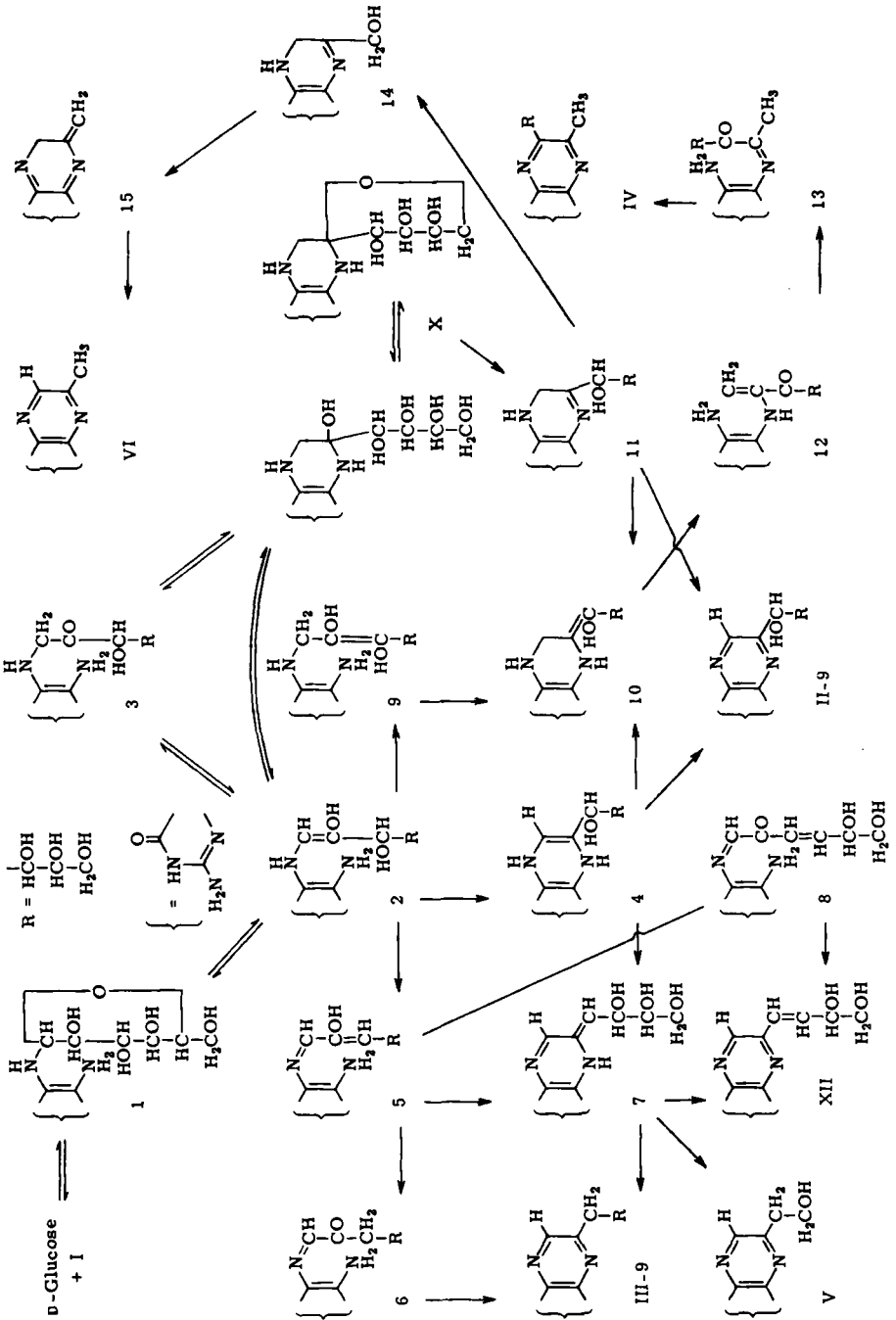
¹⁹⁾ Austral. J. Chem. 13, 396 [1960]; 15, 503 [1962].

²⁰⁾ 8-Methylverbindungen wurden beim Einsatz von Aldosen nicht gefunden.

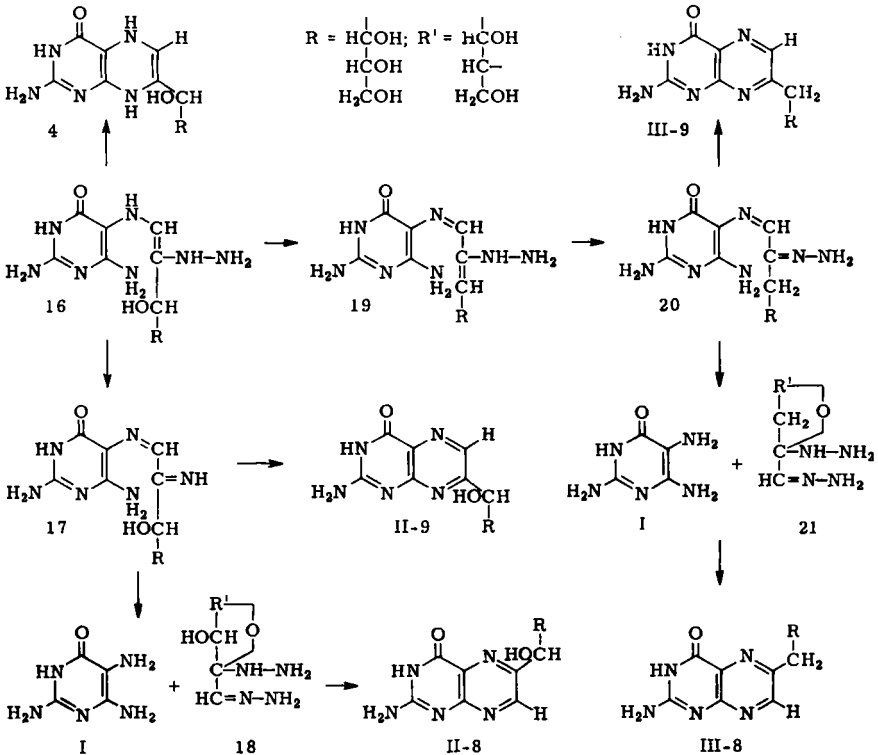
²¹⁾ H. SIMON, Chem. Ber. 95, 1003 [1962]; F. WEYGAND, H. SIMON, W. BITTERLICH sowie I. E. HODGE und B. E. FISHER, Tetrahedron [London] 6, 123 [1959].

²²⁾ H. OHLE, M. HIELSCHER und G. NOETZEL, Ber. dtsh. chem. Ges. 76, 1051 [1943]; F. WEYGAND, V. SCHMIED-KOWARZIK, A. WACKER und W. RUPP, Chem. Ber. 83, 460 [1950].

²³⁾ H. SCHAUERTE, Diplomarbeit Techn. Univ. Berlin 1957; Über Epimerisierungen, vgl. auch K. HEYNS und H. BREUER, Chem. Ber. 91, 2750 [1958]; K. HEYNS, H. PAULSEN und H. SCHROEDER, Tetrahedron [London] 13, 247 [1961].



Vorstellungen von FORREST und WALKER⁵⁾ anschließen, die ein Osazon aus Hydrazin postulieren, das unter Umglycosidierung an C-2 der Zuckerkette mit der 5-ständigen Aminogruppe von I reagiert:



Da 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-D-fructose von Hydrazin schnell und nahezu quantitativ zur Osonstufe dehydriert wird¹⁰⁾, ist es verständlich, daß auf diese Weise praktisch ausschließlich II-8 erhalten wird.

Eine derartige scharfe Lenkung ist bei Verwendung von Aldohehexosen nicht möglich, weil diese Zucker nicht selbst durch Hydrazin dehydriert werden¹⁰⁾, sondern erst das Hydrazinderivat 16 (16 → 17), das aus der Enolform 2 oder seiner Gleichgewichtsform 3 hervorgeht. Daß Hydrazin die Zwischenstufe 2 bzw. 3, kaum dagegen das Zwischenprodukt X angreift, zeigte sich in einem Versuch, bei dem X durch Erhitzen mit Hydrazin hauptsächlich zu II-9 neben wenig II-8, III-9 und IV umgesetzt wurde. Bei Verwendung von Fructose findet die Dehydrierung durch Hydrazin ebenfalls nicht so schnell und quantitativ statt wie mit 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-D-fructose, weshalb man auch mit Fructose wie bei Glucose Gemische von 8- und 9-substituierten Pterinen findet (vgl. Tab. 3).

Von 17 aus führt die gelenkte Synthese im Sinne der Vorstellungen von FORREST und WALKER nach einer Spaltung mit Hydrazin zu 18 und von dort zu II-8. Andererseits entspricht 16 der Enolform 2 und analoge Umwandlungen führen im vorliegenden

Fall über 19 → 20 zu III-9 oder durch eine Spaltung über 21 zu III-8. Aus 16 kann auch durch Ringschluß 4 hervorgehen, dessen Umwandlungen bereits diskutiert wurden.

Im Falle der Pentosen bewirkt Hydrazinzusatz keine so starke Lenkung wie bei den Hexosen. Geht man von 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-L-ribulose aus (die in Form des Oxalates kristallin dargestellt wurde), so erhält man nach Dehydrierung mit Hydrazin und Kondensation mit I ca. 50% VII-8, 20% VII-9 und ca. 30% IX-8 (die Dehydrierung war also nicht vollständig). Über mangelnde Reaktionslenkung durch Hydrazin bei Umsetzung von I mit einer 5-Desoxy-pentose wurde schon von REMBOLD¹¹⁾ berichtet.

Dem BUNDESMINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG danken wir für Unterstützung.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*)

1. Zur Papierchromatographie der Pterine: Die Rohprodukte und die durch Umkristallisation oder Umfällen gereinigten Pterine wurden papierchromatographisch (Schleicher & Schüll 2043 b) untersucht. Die besten Trennungen wurden in den Systemen *n*-Butanol/5*n* Essigsäure (2:1 Vol.) und vor allem in *n*-Propanol/1-proz. Ammoniak (2:1 Vol.) und *n*-Propanol/2-proz. Ammoniak (2:1 Vol.) erhalten. In diesen Laufmitteln trennen sich 8- und 9-isomere Alkyl- bzw. Polyhydroxyalkyl-pterine nicht auf. Erst die durch Oxydation erhaltenen 8- und/oder 9-substituierten Pterin- bzw. Methyl-pterincarbonsäuren ließen sich mit dem Laufmittel 5-proz. Ammoniumcitrat (pH 7) auftrennen. Die Oxydation der Pterine wurde nach J. H. MOWAT und Mitarbb.²⁴⁾ in alkalischer Permanganatlösung vorgenommen. Die R_F -Werte sind in Tab. 4 zusammengefaßt.

Tab. 4. R_F -Werte von Pterinen auf Schleicher & Schüll 2043 b aufsteigend

Pterin	Laufmittel			Fluoreszenzfarbe auf feuchtem Chromatogramm ^{a)}
	<i>n</i> -Propanol/ 1-proz. Ammoniak	<i>n</i> -Propanol/ 2-proz. Ammoniak	5-proz. Ammonium- citrat	
II-8; II-9	0.16	0.21	0.53	B
III-8; III-9	0.21	0.28	0.51	HB
IV	0.26	0.34	—	B
V	0.30	0.39	0.47	B
VI	0.34	0.45	0.36	B
VII-8; VII-9	0.21	0.27	0.54	B
VIII-8; VIII-9	0.27	0.32	0.49	HB
IX-8; IX-9	0.30	0.36	0.43	B
XII	0.23	0.33	0.33	GG
XIII	0.31	0.37	—	B
XIV	—	0.52	—	B
XV	—	0.79	0.45	B
8-Säure	—	0.14	0.27	B
9-Säure	—	0.16	0.38	GG
8-Methyl-9-säure ^{b)}	—	0.19	0.60	HB
9-Methyl-8-säure	—	0.17	0.48	B
8,9-Dicarbonssäure	—	0.05	0.61	GG

^{a)} HB = hellblau, GG = gelbgrün, B = blau.

^{b)} Hergestellt aus 8,9-Dimethyl-pterin durch milde Permanganatoxydation (analog Vers. 19a).

2. Pterine II–VI aus Glucose, Mannose oder Fructose²⁾: 2.57 g *I*-Sulfat (10 mMol) wurden mit 32 g Ba(OH)₂·8 H₂O (10 mMol) in 18 ccm Wasser unter Stickstoff auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Nach 20 Min. erfolgte Filtration der heißen Lösung und Zusatz von 0.55 ccm *Eis-*

*) Abkürzung: *I*-Sulfat = 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat · 1 H₂O.

²⁴⁾ J. Amer. chem. Soc. 70, 14 [1948].

essig (9.2 mMol) sowie je 1.8 g (10 mMol) einer *Hexose*. Nach 5stdg. Erhitzen unter Stickstoff auf dem Wasserbad bei 90° wurden die Pterine in der Kälte abgesaugt und mit Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Die Rohausbeuten betragen 10–15% d. Th. (bei mittlerem Mol.-Gew. 280). Das braune Pteringemisch ließ sich durch Umkristallisation aus viel Wasser unter Aktivkohlezusatz reinigen. Die Zusammensetzung änderte sich dabei nicht merklich.

3. Die Pterine VI–IX aus Ribose gewannen wir wie unter 2. Rohausb. 58% d. Th. (bei mittlerem Mol.-Gew. 250).

4. Darstellung der Pterine II–VI in Pufferlösung: 1.3 g I-Sulfat (5 mMol), 0.9 g Glucose (5 mMol) und 2 g Natriumacetat wurden in 25 ccm Wasser + 1.5 ccm Eisessig gelöst. Nach Verdrängen der Luft durch Stickstoff wurde auf dem Wasserbad 5 Stdn. bei 90° gehalten, wobei das I-Sulfat langsam in Lösung ging und die Pterine sich ausschieden. Nach Filtration, Waschen mit Äthanol, Wasser und Äther sowie Trocknung erhielt man 0.15 g (11% d. Th., bei mittlerem Mol.-Gew. 280).

5. Darstellung der Pterine VI–IX aus Ribose in Pufferlösung: Die Herstellung wie bei 4. lieferte 0.9 g Pterine (72% d. Th., bei mittlerem Mol.-Gew. 250).

6. Pterine II–IV bzw. VII–IX aus Glucose bzw. Ribose unter Hydrazinzusatz: Die Darstellung erfolgte nach FORREST und WALKER¹³⁾. Rohausb. 62% Pterine aus Glucose, 53% Pterine aus Ribose. Zur Reinigung wurde in Ammoniak unter Aktivkohlezusatz gelöst und mit Essigsäure wieder ausgefällt sowie zweimal aus Wasser umkristallisiert. Zur Elementaranalyse wurden die Pterine bei 2 Torr/110° über P₂O₅ getrocknet.

II-8 bzw. II-9:	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅ (283.3)	Ber. C 42.40 H 4.63 N 24.71
III-8 bzw. III-9:	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ (267.3)	Ber. C 44.94 H 4.90 N 26.21 Gef. C 42.06 H 4.77 N 23.75
VII-8 bzw. VII-9:	C ₉ H ₁₁ N ₅ O ₄ (253.2)	Ber. C 42.69 H 4.39 N 27.66
VIII-8 bzw. VIII-9:	C ₉ H ₁₁ N ₅ O ₃ (237.2)	Ber. C 45.57 H 4.64 N 29.51 Gef. C 43.17 H 4.64 N 28.30

7. 8-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin (II-8): Die Kondensation von I-Sulfat (anstelle von I-Hydrogensulfat) mit 1-[*p*-Toluidino]-*D*-fructose unter Hydrazinzusatz nach WEYGAND^{6b)} lieferte einheitliches II-8 (nur Spuren II-9). Ausb. 22% d. Th. nach zweimaliger Umfällung aus Ammoniaklösung mit Essigsäure.

8. Pentaacetat von II-8³⁾: 0.5 g II-8 wurden in 20 ccm Acetanhydrid + 5 ccm abs. Pyridin 1.5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Geringe Reste nicht umgesetztes Pterin wurden in der Kälte abfiltriert und das Filtrat i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde zunächst mit 10 ccm Äther durchgearbeitet und dieser Extrakt verworfen. Sodann erfolgte Extraktion mit 250 ccm Äther. Beim Einengen der Ätherlösung fiel ein gelbliches amorphes Pulver an. Ausb. 150 mg (17% d. Th.).

C₂₀H₂₃N₅O₁₀ (493.5) Ber. C 48.68 H 4.70 N 14.18 Gef. C 49.14 H 4.92 N 13.64

Im Massenspektrometer findet man als größte Masse $M = 493$.

Zur Verseifung wurden 95 mg in 25 ccm *n*/₁₀ NaOH über Nacht stehengelassen. Die Rücktitration gegen Phenolphthalein ergab 6.1 Säureäquiv. (5 Acetylgruppen + 6-Hydroxygruppe des Pterins).

9. Pteringemisch (III vorherrschend) aus 3-Tosyl-*D*-glucose: Sirupöse 3-Tosyl-*D*-glucose wurde aus 1.2; 5.6-Diaceton-3-[*p*-toluolsulfonyl]-glucofuranose-(1.4) nach J. KENNER und G. N. RICHARDS²⁵⁾ dargestellt. 0.35 g (1m Mol) des nicht kristallisierbaren Sirups wurden mit 257 mg I-Sulfat (1 mMol), 120 mg Borsäure, 270 mg Natriumacetat und 0.75 ccm Hydrazin-

²⁵⁾ J. chem. Soc. [London] 1957, 3019.

hydrat in 18 ccm Wasser 6 Stdn. unter Stickstoff auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Nach Abkühlung, Filtration und Waschen mit Wasser, Äthanol und Äther erhielt man 50 mg Rohpterin (18% d. Th., bei mittlerem Mol.-Gew. 280). Die Papierchromatographie zeigte, daß im wesentlichen *Pterin III* neben anderen Pterinen (*IV* und *VI*) vorlag.

10. *Zwischenprodukt X aus I-Sulfat und D-Glucose*: 5.2 g *I-Sulfat* (20 mMol), 4.0 g *Glucosehydrat* (20 mMol) sowie 14 g *sek. Natriumphosphat* ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) wurden unter Stickstoff in 80 ccm Wasser 90 Min. auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Die Lösung wurde 3 Stdn. auf 0° gekühlt, filtriert und gefriergetrocknet. Den gelblichen Rückstand extrahierte man mit 50 ccm Dimethylsulfoxyd/Dimethylformamid (3 : 2) bei Raumtemperatur. Nach Filtration und Zusatz von 150 ccm Aceton fiel ein flockiger Niederschlag aus, der unter Luftausschluß abgesaugt und mit viel Aceton gewaschen wurde. Rohausb. nach Trocknen im Vakuumexsikkator 5 g (82% d. Th.). Das bräunliche Produkt hatte 6% Aschegehalt. 1 g Rohprodukt, gelöst in 3 ccm Dimethylsulfoxyd, wurde zur Reinigung auf eine Aluminiumoxydsäule (5 g Al_2O_3 , sauer, Akt.-St. I) von 12 mm \varnothing gegeben und mit Dimethylformamid ausgewaschen. 10 ccm des rotbraun gefärbten Eluats wurden in 80 ccm Aceton aufgefangen und wie oben aufgearbeitet. Nach Trocknung über P_2O_5 i. Vak. Ausb. 0.5 g. Die bräunliche Substanz hatte 1% Aschegehalt und war unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluß kurze Zeit haltbar.

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_6$ (303.3) Ber. C 39.60 H 5.66 Gef. C 39.13 H 5.60

11. *9-[Tetrahydroxy-butyl]-pterin (II-9)*: Ein schwacher Luftstrom wurde 12 Stdn. bei Raumtemperatur und anschließend 1.5 Stdn. bei 90° in eine Lösung von 0.5 g *X* in 10 ccm 5-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung geleitet. Beim Ansäuern mit Eisessig fiel chromatographisch reines *II-9* aus, das abzentrifugiert und mit Wasser, Äthanol sowie Äther gewaschen wurde. Ausb. 0.32 g (71% d. Th.). Umkristallisiert wurde aus viel Wasser unter Aktivkohlezusatz.

$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5$ (283.3) Ber. C 42.40 H 4.63 N 24.71 Gef. C 42.31 H 4.75 N 24.04

Die *Acetylierung von II-9* wurde wie bei *II-8* (Vers. 8) vorgenommen. Anstelle der Extraktion mit Äther wurde jedoch zweimal aus Isopropylalkohol unter Tierkohlezusatz umkristallisiert. 1 g *II-9* ergab 220 mg *Pentaacetat* (12.5% d. Th.).

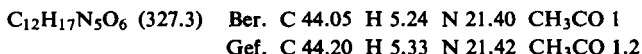
12. *Pterine II–VI aus X*: 900 mg *X* (3 mMol) wurden mit 3 g wasserfreiem *Natriumacetat* und 2.75 ccm *Eisessig* in 37 ccm Wasser 3.5 Stdn. auf dem Wasserbad bei 90° unter Stickstoff erhitzt. Nach 12 Stdn. wurde das gebildete Pteringemisch abgesaugt und mit wenig Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Ausb. 119 mg (14% d. Th.). Papierchromatographisch ließen sich die *Pterine II* und *IV* neben weniger *III* und *VI* sowie sehr wenig *V* nachweisen.

13. *Pterine II, III und IV aus X unter Hydrazinzusatz*: 900 mg *X* wurden in einer Lösung von 800 mg *Natriumacetat* (wasserfrei), 350 mg *Borsäure*, 300 mg *Eisessig* und 250 mg *Hydrazinhydrat* in 6 ccm Wasser 3.5 Stdn. auf dem Wasserbad bei 90° unter Stickstoff erhitzt. Es wurden, wie bei Vers. 12., 78 mg (9% d. Th.) *Pterine* isoliert, der Hauptanteil bestand aus *II-9*.

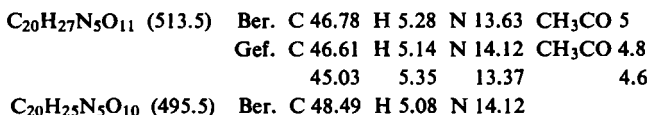
14. *Perjodatbehandlung des Zwischenproduktes X*: 50 mg *X*, gelöst in wenig Wasser, wurden mit 100 ccm 0.1 *n NaJO*₄ versetzt, wobei sich augenblicklich *Pterin* ausschied. Nach 14 Stdn. wurden 50 ccm der Lösung mit wenig Schwefelsäure sowie Kaliumjodid versetzt und mit 0.1 *n Na*₂*S*₂*O*₃ titriert. Perjodatverbrauch: 3.64 bzw. 3.58 Moläquivv. In einem weiteren Versuch wurden 300 mg *X* in 50 ccm 0.1 *n NaJO*₄-Lösung 48 Stdn. stehengelassen. Nach Rücktitration mit 0.1 *n Arsenit* wurde ein Verbrauch von 3.76 Moläquivv. Perjodat ermittelt. Mit Hilfe von Vergleichssubstanzen ließen sich papierchromatographisch *Pterin-aldehyd-(9)* neben wenig *Pterin-carbonsäure-(9)* und *Isoxanthopterin* als Spaltprodukt nachweisen.

15. Acetylierung des Zwischenproduktes X

a) Mit *Acetanhydrid*/Eisessig: X wurde aus 31 g I-Sulfat, 24 g Glucosehydrat und 84 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ nach Vers. 10. hergestellt. Der Rückstand der Gefriertrocknung wurde 24 Stdn. bei 20° in 250 ccm *Acetanhydrid*/Eisessig (1:1.5 Vol.) gerührt. Nach Filtrieren und Eindampfen i. Vak. resultierte ein Sirup, der mit 300 ccm heißem Isopropylalkohol extrahiert wurde. Die in der Kälte ausgeschiedenen Kristalle wurden abgesaugt, mit der Mutterlauge extrahiert man erneut. Nach 5 maliger Wiederholung lagen 15.8 g (40%) Acetylierungsprodukt von X vor. Zur Analyse wurde 3 mal aus Isopropylalkohol umkristallisiert.



b) Mit *Acetanhydrid*/Pyridin: X wurde aus 5.2 g I-Sulfat sowie 4 g Glucosehydrat nach Vers. 10. dargestellt. Man erhitzte den fein pulverisierten Rückstand der Gefriertrocknung mit 25 ccm *Acetanhydrid* und 40 ccm absol. *Pyridin* 2 Stdn. auf dem Wasserbad bei 90° und filtrierte die anorganischen Salze ab. Der Salzurückstand wurde dreimal mit wenig Pyridin gewaschen und die vereinigten Filtrate wurden i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der dunkle sirupöse Rückstand ergab bei der Extraktion mit 50 ccm siedendem Isopropylalkohol sowie nach Filtrieren und Kühlen gelbe Kristalle. Nach mehrmaliger Extraktion mit der Mutterlauge erhielt man 4 g (40% d. Th.).



16. Zwischenprodukt X in tritiummarkiertem Wasser

a) *Bestimmung des Tritiumeinbaus in aus X resultierendes II-9*: In einem 10-mMol-Ansatz (40 ccm *HOT*, Radioaktivität = 277000 ipm/mMol) wurde X nach Vers. 10. dargestellt und nach Vers. 11. zu *II-9* dehydriert. Tritiumeinbau: 17900 ipm/mMol (14% der halben Wasser-Radioaktivität).

b) *Direkte Bestimmung des Tritiumeinbaus in X*: In einem 10-mMol-Ansatz (30 ccm *HOT* = 277000 ipm/mMol) wurde X wie bei Vers. 10. dargestellt. Der Rückstand der Gefriertrocknung wurde zum Austausch labil gebundenen Tritiums je zweimal in 50 ccm kaltem Wasser gelöst und erneut gefriergetrocknet. Dann wurde weiter nach Vers. 10. aufgearbeitet. Radioaktivität 17200 ipm/mMol (13.5% der halben Wasser-Radioaktivität).

17. *Austauschversuch Zwischenprodukt X mit I-Sulfat-[2-¹⁴C]*: 1.02 g *I-Sulfat*-[2-¹⁴C] (296000 ipm/mMol) (4 mMol) und 1.55 g X (5 mMol) wurden in 50 ccm *Phosphatpuffer* (100 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 110 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 650 ccm H_2O) auf dem Wasserbad bei 90° erhitzt. Nach bestimmten Zeiten (s. Tab.) wurden jeweils 10 ccm der Lösung entnommen, rasch auf 0° abgekühlt und 12 Stdn. im Eisschrank stengelassen. Man filtrierte ausgefallenes Pterin und I-Sulfat ab, wusch mit Wasser nach und versetzte die Filtrate mit je 1.5 ccm konz. Ammoniak (pH 9). Nach 48stdg. Stehenlassen an der Luft erhitzte man noch 1 Stde. auf dem Wasserbad, fällte das *Pterin II-9* mit Eisessig aus und kristallisierte aus Wasser um.

Fraktion Nr.	1	2	3	4	5
Zeit (Min.)	10	20	30	60	90
Einbau von I-[¹⁴ C] in II-9 (% der Gleichverteilung)	4.2	8.2	10.5	16.4	18.7

18. 8-[1'.2'-Dihydroxy-äthyl]-9-methyl-pterin (IX-8)

a) IX-8 aus D-Ribose: 10.2 g I-Sulfat (40 mMol) und 12.6 g Ba(OH)₂·8H₂O (40 mMol) wurden in 70 ccm Wasser unter Stickstoff 20 Min. auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Die heiße Mischung wurde scharf abgesaugt und das Filtrat mit 2.2 ccm Eisessig, 32.8 g wasserfreiem Natriumacetat und 2 g D-Ribose (13.3 mMol) versetzt. Man erhitzte erneut 4.5 Stdn. unter Stickstoff auf dem Wasserbad auf 90° und ließ über Nacht an der Luft stehen. Das ausgefallene Pterin wurde abfiltriert und mit Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Rohausb. 1.86 g (59% d. Th.). In anderen Ansätzen wurden Ausbeuten bis zu 90% d. Th. erzielt. Die Höhe der Ausbeute hing stark von der Menge der freien I-Base ab. Im vorliegenden Versuch blieb viel I-Base im Bariumsulfat zurück. Durch Lösen in Ammoniak, Behandlung mit Aktivkohle und Ausfällen mit Eisessig sowie dreimalige Umkristallisation aus viel Wasser wurde das Produkt gereinigt.

C₉H₁₁N₅O₃ (237.2) Ber. C 45.60 H 4.67 N 29.51
Gef. C 45.14, 44.84 H 4.52, 4.81 N 28.94, 29.61

[α]₅₇₈²⁰: -6.7° (3n HCl; c = 0.09); [α]₃₄₆²⁰: -11° (3n NH₃; c = 0.03).

Die Acetylierung von 1 g IX-8 wurde wie bei Vers. 8. durchgeführt. Nach Abdampfen von Pyridin und Acetanhydrid bewirkte Zusatz von wenig Aceton Kristallisation. Das von der Acetonlösung abgesaugte Triacetat wurde zweimal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 211 bis 213°. Im Massenspektrometer läßt sich als größte Masse M = 263 (Triacetat von IX-8) nachweisen.

b) IX-8 aus L-(+)-Arabinose: Ausb. 22% d. Th. [α]₃₄₆²⁰: +6° (2n NH₃; c = 0.04).

c) IX-8 aus D-Ribose-[1-¹⁴C]: Nach zweimaliger Umkristallisation aus Wasser Radioaktivität 16600 ipm/mMol.

19. 9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8) aus IX-8

a) Milde Permanganatoxydation: 0.2 g IX-8 wurden in 20 ccm 0.1 n NaOH auf dem Wasserbad unter Rühren nach und nach mit gesätt. Kaliumpermanganatlösung versetzt, bis die violette Farbe 10 Min. bestehen blieb. Durch Zugabe von wenig Methanol beseitigte man den Permanganatüberschuß, filtrierte vom Mangandioxyd ab und fällte die 9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8) mit Eisessig aus.

b) Perjodatspaltung mit anschließender Wasserstoffperoxyd-Oxydation: 1 g IX-8 wurden in 100 ccm 2 n NaOH auf dem Wasserbad gelöst, mit 2 g NaJO₄ in 50 ccm heißem Wasser versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach Zufügen von 20 ccm 30-proz. Wasserstoffperoxyd erhitzte man 1 Stde. auf dem Wasserbad und setzte sodann 70 g festes Natriumhydroxyd in Portionen zu. Beim Abkühlen schied sich das Na-Salz der Pterincarbonensäure aus. Es wurde in 300 ccm Wasser gelöst und nach Aktivkohlebehandlung durch Zugabe von Eisessig in die freie Säure übergeführt. Ausb. 0.3 g (30% d. Th.).

20. Pterin-dicarbonsäure-(8.9) aus IX-8: 200 mg IX-8 wurden in 20 ccm 1 n NaOH auf dem Wasserbad 3 Stdn. mit einem Kaliumpermanganatüberschuß erhitzt. Nach Zugabe von Methanol wurde abgesaugt, die Pterindicarbonsäure mit Eisessig ausgefällt, aus Ammoniaklösung unter Aktivkohlezusatz mit Eisessig umgefällt, aus ca. 2 ccm heißer Natronlauge als Natriumsalz kristallisiert, umkristallisiert und mit Essigsäure in die freie Pterindicarbonsäure zurückverwandelt.

C₈H₅N₅O₅·2H₂O (287.2) Ber. C 33.48 H 3.15 N 24.38 Gef. C 33.40 H 3.18 N 24.48

Das IR-Spektrum stimmte überein mit dem von Pterin-dicarbonsäure-(8.9), die durch energische Oxydation von 8.9-Dimethyl-pterin erhalten worden war.

21. *9-Methyl-pterin aus 9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8)*

a) In einem kleinen Kolben erhitzte man 100 mg *9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8)* (von Vers. 19.) 1 Stde. im Ölbad auf 270° und leitete das entstandene *Kohlendioxyd* mit einem CO₂-freien Stickstoffstrom in Bariumhydroxydlösung. Ausb. 41 mg Bariumcarbonat (46% d. Th.).

b) 100 mg *9-Methyl-pterin-carbonsäure-(8)* wurden in 10 ccm Chinolin unter Zusatz einer Spatelspitze Kupferpulver 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. 66% CO₂ wurden entwickelt. Die Decarboxylierungsrückstände von a) und b) lieferten bei der Oxydation Pterin-carbonsäure-(9) neben Pterin-dicarbonsäure-(8.9).

22. *Perjodatspaltung von IX-8*

a) *Volumetrische Bestimmung*: 100 mg *IX-8* wurden in 10 ccm 2*n* H₂SO₄ + 50 ccm 0.1*n* NaJO₄ gelöst und 18 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Zugabe von Kaliumjodid wurde das ausgeschiedene Jod mit 0.1*n* Na₂S₂O₃ titriert. Perjodatverbrauch 0.98 Mol.

In einem zweiten Versuch wurden 100 mg *IX-8* in 10 ccm 2*n* NH₃ mit 50 ccm 0.1*n* NaJO₄ 15 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Verbrauch 1.04 Mol NaJO₄.

b) *Quantitat. Bestimmung der Spaltprodukte*: 200 mg *IX-8* in 10 ccm 2*n* H₂SO₄ wurden nach Zugabe von 100 ccm 0.1*n* NaJO₄ 18 Stdn. stehengelassen. Man setzte wenig Natriumacetat zu und destillierte bei 80 Torr. Dreimal wurde der auf wenige ccm eingeeengte Rückstand mit 10 ccm Wasser versetzt und erneut eingedampft. Das in eisgekühlter Vorlage aufgefangene Destillat wurde mit 0.35 g *Dimedon* in 100 ccm heißem Wasser versetzt. Nach 12 Stdn. wurde das entstandene *Formaldimedon* abgesaugt. Ausb. 230 mg (89% d. Th.).

Der Destillationsrückstand wurde, in 100 ccm 2*n* HCl gelöst, mit 2.4-Dinitro-phenylhydrazinlösung versetzt. Das sich bildende 2.4-Dinitro-phenylhydrazon konnte nicht weiter gereinigt und analysiert werden.

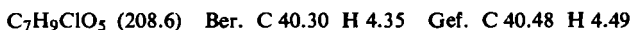
c) *Spaltung von IX-8-[¹⁴C] wie unter b)*: Radioaktivität des *Formaldimedons*: 165 ipm/mMol (1% der Radioaktivität von IX-8-[¹⁴C]).

23. *Kuhn-Roth-Oxydation von IX-8-[¹⁴C]*: Die aus 200 mg *IX-8-[¹⁴C]* resultierende *Essigsäure* (32%) wurde nach Titration mit Natronlauge und Einengen auf 2 ccm durch Zugabe von AgNO₃-Lösung in Silberacetat übergeführt. Radioaktivität: 16060 ipm/mMol (96.5% der Aktivität von IX-8-[¹⁴C]).

24. *Vergleich von IX-8 und IX-9*

a) *DL-Diacetylglycerinsäure*: 50 g *DL-Calciumglycerat* (0.4 Mol) wurden auf einmal in eine Lösung von 22 g Chlorwasserstoff in 350 g *Acetanhydrid* eingetragen. Unter Rühren und Selbsterwärmung auf ca. 80° trat Lösung ein. Nach 7 stdg. Erwärmen auf 90° wurde das überschüss. *Acetanhydrid* i. Vak. abgedampft (80°-Ölbad). Der Rückstand wurde mit 300 ccm Benzol versetzt, gut durchgerührt und 12 Stdn. stehengelassen. Das abgeschiedene Calciumchlorid wurde abgesaugt und der Rückstand zweimal mit Benzol ausgewaschen. Nach Einengen des Filtrats i. Vak. (0.2 Torr) bei ca. 50–60° hinterblieben 65 g öliges Rückstand.

b) *DL-Diacetylglycerinsäurechlorid*²⁷⁾: Das obige Öl wurde mit 200 ccm *Thionylchlorid* 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Sdp._{0.4} 76–77°. Ausb. 35 g (45% d. Th., bez. auf Ca-Glycerat).



c) *2-Diazo-4.5-diacetoxy-pentandion-(2.3)*: Der Lösung von 92.5 mMol *Diazoäthan* in 270 ccm Äther wurden 9.6 g *DL-Diacetylglycerinsäurechlorid* in 150 ccm Äther bei –5° zugetropft. Nach weiterem 1 stdg. Rühren bei –5° und Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur hinterblieb beim Abdampfen des Äthers das ölige *Diazoketon*.

²⁷⁾ Vgl. hierzu C. H. BROWNING, J. B. COHEN, K. E. COOPER und R. GULBRANSEN, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B 110, 372 [1932].

d) *4.5-Diacetoxy-pentandion-(2.3)-triphenylphosphazin-(2)*: Zur Lösung des *Diazoketons* in 60 ccm Äther wurden 12.5 g *Triphenylphosphin* in 50 ccm Äther gegeben. Beim mehrtägigen Aufbewahren im Eisschrank schieden sich 11.3 g (50%) des *Phosphazins* in großen gelben Kristallen aus.

$C_{27}H_{27}N_2O_5P$ (490.5) Ber. C 66.11 H 5.55 N 5.71 Gef. C 66.16 H 5.65 N 5.85

e) *Kondensation des Phosphazins mit I-Sulfat*: 1.5 g *I-Sulfat* und 2.5 g *Phosphazin* wurden zusammen mit 3 g Natriumacetat, 1.5 g Borsäure in 30 ccm Wasser 5 Stdn. auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Anschließend brachte man mit einigen Tropfen konz. Salzsäure auf pH 1 und erwärmte eine weitere Stde. Nach dem Abkühlen wurde neutralisiert, das doppelte Vol. Äthanol zugegeben und nach weiteren 24 Stdn. das ausgeschiedene *Pterin* abgesaugt. Nach Waschen mit Wasser, viel Äthanol und Äther betrug die Rohausb. 0.8 g (65% d. Th.).

25. *Pteringemisch aus 1-[p-Toluidino]-1-desoxy-D-fructose*: Nach der Vorschrift von WEYGAND und Mitarbb.^{6b)} wurden nach einmaliger Umkristallisation aus viel Wasser unter Aktivkohlezusatz Ausbeuten von 27–30% erzielt.

$C_{10}H_{13}N_5O_4$ (267.3) Ber. C 44.94 H 4.91 N 26.21 Gef. C 44.54 H 5.06 N 26.74

26. *2-Acetamino-6-hydroxy-9-[3',4'-diacetoxy-buten-(1')-yl]-pteridin (XI)*: 5.7 g fein pulvertes *Pteringemisch* von Vers. 25. wurden mit 60 ccm *Acetanhydrid* und 20 ccm absol. Pyridin 30 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach Filtrieren und erneutem Erhitzen des ungelösten Rückstandes in 60 ccm *Acetanhydrid* + 20 ccm Pyridin (30 Min.) trennte man wenig ungelöstes Ausgangsprodukt ab und dampfte die vereinigten Filtrate i. Vak. zur Trockne ein. Beim Verrühren des resultierenden dunkelbraunen Sirups mit 25 ccm Aceton setzte die Kristallisation von *XI* ein. Nach Absaugen und Waschen mit wenig Aceton ergab sich ein Rohprodukt, das aus Wasser sowie Äthanol umkristallisiert wurde. Ausb. 1.15 g (14% d. Th.) blaßgelbe Kristalle. Schmp. 229–230°, bei 220° Braunfärbung. Die Acetylierung von 3 g des *Pteringemisches* aus Glucose und I (von Vers. 4.) lieferte 180 mg *XI* (14% d. Th.). Im Massenspektrum betrug die größte Masse 375. $[\alpha]_{246}^{20}$: +17.8° (0.1 n NaOH, $c = 0.878$).

$C_{16}H_{17}N_5O_6$ (375.4) Ber. C 51.04 H 4.55 N 18.59 Gef. C 51.45 H 4.81 N 18.74

a) *Protonenresonanz-Spektrum von XI in n/10 NaOD*: Signale bei ppm (Intensität): 8.5 (1); 8.2 (1); 6.8 (2); 4.4 (1); 3.6 (2); 2 (9).

b) *UV-Absorption von XI (in n/10 HCl)*: λ_{\max} 352, 270, 232 m μ ; (in n/10 NaOH): λ_{\max} 368, 270, 232 m μ ; (in H₂O, pH 6): λ_{\max} 355, 270, 232 m μ .

c) *Verseifung von XI*: 115 mg *XI* wurden in 30 ccm n/10 NaOH über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Die Rücktitration gegen Phenolphthalein ergab 4.18 (4.03) Säureäquiv. (3 Acetylgruppen + 6-Hydroxylgruppe des Pterins.) Das Verseifungsprodukt *XII* war chromatographisch nicht ganz einheitlich.

$C_{10}H_{11}N_5O_3$ (249.2) Ber. C 48.17 H 4.45 N 28.07 Gef. C 47.38 H 4.61 N 27.13

d) *Hydrierung und Dehydrierung von XII*: In einer Mikrohydrierapparatur nach GREWE wurden 6.2 mg *XII* in 4 ccm Ameisensäure und 5 mg PtO₂ bei 23° und Normaldruck hydriert. Nach 50 Min. war die Wasserstoffaufnahme beendet. Verbrauch: 2.66 Moläquiv. H₂, in einem zweiten Vers. 2.90 Moläquiv. H₂. Die Rückoxydation wurde mit PtO₂/O₂ in der gleichen Apparatur vorgenommen. Nach der Filtration und Eindampfen i. Vak. zur Trockne hinterblieb ein *Pteringemisch*, der Papierchromatographie zufolge *XIII* als Hauptkomponente neben *XIV* und *XV* sowie geringen Mengen nicht identifizierter Pterine enthaltend. Der Rückstand wurde in 2 ccm n/10 H₂SO₄ gelöst und nach Zugabe von 20 mg Natriumperjodat 24 Stdn. stehengelassen. Erneute Chromatographie zeigte unverändert *XIV* und *XV*, dagegen kein *XIII*.

e) *Hydrierung von XI*: 150 mg *XI* wurden in 20 ccm Äthanol und 10 mg PtO_2 unter Normaldruck bei Raumtemperatur hydriert. Das Ausgangsprodukt ging während der Hydrierung langsam in Lösung, nach 2 Stdn. war die Wasserstoffaufnahme beendet. Verbrauch 4 Moläquiv. H_2 . Nach Filtration und Eindampfen i. Vak. zur Trockne wurde der braune Rückstand in Isopropylalkohol gelöst. Durch langsame Zugabe von Äther ließ sich ein amorphes Tetrahydropterinegemisch ausfällen, das mit Äther gewaschen und bei 100° i. Vak. getrocknet wurde.

Massenspektrometrisch war als größte die Masse 381 (2-Acetamino-6-hydroxy-9-[3'.4'-diacetoxy-butyl]-7.8.9.10-tetrahydro-pteridin) nachweisbar.

Die Hydrierung von *XI* in Eisessig, Ameisensäure, Dimethylformamid mit PtO_2 als Katalysator verlief jeweils unter Aufnahme von 4 Moläquiv. Wasserstoff (gef. zwischen 3.9 und 4.1 Moläquiv.).

f) *Hydrierung und Dehydrierung von XI*: 160 mg *XI* wurden in 25 ccm Dimethylformamid mit 15 mg PtO_2 als Katalysator hydriert. Nach 45 Min. waren 4.0 Moläquiv. Wasserstoff aufgenommen. Bei der Rückoxydation mit PtO_2/O_2 wurden innerhalb von 2 Stdn. 0.8 Moläquiv. Sauerstoff verbraucht. Es wurde filtriert und i. Vak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in 100 ccm 0.1*n* NaOH 3 Tage an der Luft stengelassen, sodann auf 20 ccm eingengt und mit wenig Eisessig angesäuert. Das ausgefällte Pterinegemisch wurde aus Wasser unter Tierkohlezusatz umkristallisiert. Die Papierchromatographie zeigte das Vorliegen von viel *XIV* und *XV* neben wenig *XIII* an.

27. *Hydrierung und Dehydrierung von II-9*: 200 mg *II-9* wurden in 10 ccm Ameisensäure mit wenig PtO_2 als Katalysator hydriert. Nach 30 Min. war die Wasserstoffaufnahme von insgesamt 2.56 Moläquiv. beendet. Zwischendurch wurde die Hydrierlösung tief rot. Die zum Ende braune Lösung wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft. Nach Aufnahme des Rückstandes in verd. Natriumhydroxyd wurde mit O_2/PtO_2 dehydriert. Nach 12 Stdn. waren 1.1 Moläquiv. O_2 verbraucht. Die Papierchromatographie zeigte das Vorliegen von *III-9* neben weniger *II-9*, *XIV*, *XIII* und *XV* sowie grüngelb fluoreszierenden Substanzen an.

28. *Hydrierung und Dehydrierung des Pentaacetats von II-9*: 200 mg Pentaacetat von *II-9* wurden in 7 ccm Eisessig mit wenig PtO_2 als Katalysator hydriert. Nach 80 Min. betrug die Wasserstoffaufnahme 5.7 Moläquiv. H_2 . Kristalline Produkte waren nicht faßbar. Nach Verseifung mit $n/_{10}$ NaOH unter Luftzutritt ließen sich chromatographisch 4 gelbgrüne und 4 blau fluoreszierende Flecke nachweisen. Bei den blau fluoreszierenden Pterinen handelt es sich um *III-9*, *XIII*, *XIV* und *XV*.

29. Vergleichsgemisch von *XV-8* und *XV-9*

a) *Hexandion-(1.2)-triphenylphosphazin-(1)*: Zu 200 ccm Diazomethanlösung aus 20 g Nitrosomethylharnstoff wurden bei -5° 6 g Valerylchlorid in 50 ccm absol. Äther unter Rühren während einer Stde. zuge tropft. Nach 2 weiteren Stdn. wurde i. Vak. auf 20 ccm eingengt und eine Lösung von 13 g Triphenylphosphazin in 150 ccm Äther zugefügt. Nach 12stdg. Aufbewahren im Kühlschrank und Anreiben kristallisierte das gelbliche Phosphazin aus. Ausb. nach Waschen mit Äther 10.8 g (56%).

b) *Kondensation des Phosphazins mit 2.4.5-Triamino-6-isopropoxy-pyrimidin*²⁸⁾: 3.6 g des Pyrimidins und 7.8 g des Phosphazins erhitzte man in 80 ccm 60-proz. Äthanol $5\frac{1}{2}$ Stdn. unter Rückfluß, setzte verd. Natronlauge bis pH 11 zu und erhitzte erneut für 45 Min. unter Rückfluß. Nach Abkühlung wurde mit Eisessig angesäuert und der Pterin-Niederschlag aus verd. Ammoniak mit Eisessig unter Tierkohlezusatz umgefällt. Ausb. 0.79 g (18%). Das Pterin-

²⁸⁾ W. PFLEIDERER und R. LOHRMANN, Chem. Ber. 94, 12 [1961]; s. a. B. SPIESS, Dissertat. Techn. Hochschule München 1963.

gemischt lieferte bei der Chromatographie in Propanol/Ammoniak *einen* Fleck, bei energischer Permanganatoxydation die 8- und 9-isomeren Pterincarbonsäuren.

$C_{10}H_{13}N_5O$ (219.3) Ber. C 54.80 H 5.98 N 31.93 Gef. C 53.52 H 6.05 N 32.60

30. 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-*L*-ribulose-oxalat²⁹⁾: 10 g *L*-Arabinose (67 mMol) und 10 g *p*-Toluidin (94 mMol) wurden, innig vermischt, in 5 ccm Isopropylalkohol 30 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Zur kalten dunklen sirupösen Schmelze gab man 50 ccm Isopropylalkohol, saugte das nach mehreren Tagen im Eisschrank auskristallisierte *N*-Glykosid ab und wusch mit kaltem Isopropylalkohol und Äther. Ausb. 12.5 g (77% d. Th.) fast farblose, an der Luft zersetzliche Kristalle. 7 g hiervon wurden in 40 ccm absol. Dioxan mit 2 ccm Eisessig unter Stickstoff 2 1/2 Stdn. auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Nach Abkühlung auf 10° und Zusatz von 5 g wasserfreier Oxalsäure in 25 ccm absol. Dioxan ließ man 12 Stdn. bei 10° stehen und isolierte nach dem Absaugen und Waschen mit Dioxan sowie Äther (Trocknung i. Vak. über KOH) 6.8 g (70% d. Th.) rotbraune Kristalle. Zur Reinigung wurde in heißem Wasser gelöst, mit Aktivkohle geklärt und gefriergetrocknet, wonach ein fast farbloses Produkt vorlag.

$C_{12}H_{17}NO_4 \cdot C_2H_2O_4 \cdot H_2O$ (347.3) Ber. C 48.45 H 6.09 N 4.03
Gef. C 48.45 H 5.77 N 4.26

31. Pterine VII–IX aus 1-[*p*-Toluidino]-1-desoxy-*L*-ribulose-oxalat und 1-Sulfat unter Hydrazinzusatz: 2 g des Oxalats (5.8 mMol) wurden mit 4 ccm Hydrazinhydrat und 2 ccm Eisessig in 12 ccm Wasser 1 Stde. auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde zweimal mit je 25 ccm Äther extrahiert und der wäßr. Phase 1 g 1-Sulfat (3.9 mMol) sowie 4 ccm Eisessig hinzugefügt. Nach 1 stdg. Erhitzen unter Stickstoff auf 90° wurde abgesaugt und mit Wasser, Äthanol sowie Äther gewaschen: 100 mg (10%) Rohpterine. Die Zusammensetzung betrug: ca. 50% VII-8, ca. 20% VII-9 und ca. 30% IX-8.

²⁹⁾ Zur Amadori-Umlagerung vgl.: F. MICHEEL und A. FROWEIN, Chem. Ber. 90, 1599 [1957]; F. WEYGAND, H. SIMON und R. VON ARDENNE, ebenda 92, 3117 [1959].