

## FRIEDRICH WEYGAND und BERNHARD SPIESS

## Pterine\*) aus 2-Trifluormethyl-pseudooxazolonen-(5)

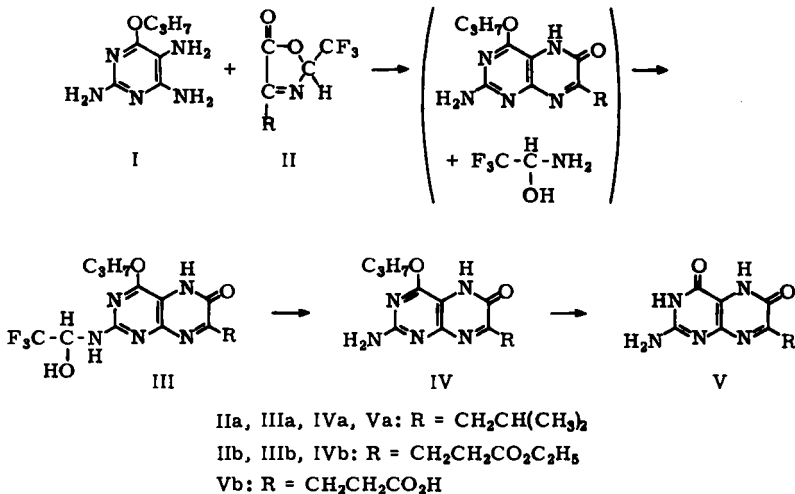
Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 19. Juni 1964)

4-Substituierte 2-Trifluormethyl-pseudooxazolone-(5) kondensieren in Eisessig mit 2.4.5-Triamino-6-isopropoxy-pyrimidin isomerenspezifisch zu 9-substituierten 2-Amino-8-hydroxy-6-isopropoxy-pteridinen, die zu 9-substituierten Xanthopteren hydrolysierbar sind. Ausgehend von 2.4-Diamino-glutarsäure wurde auf diese Weise  $\beta$ -[Xanthopteryl-(9)]-DL-alanin dargestellt, das wiederum über ein Pseudooxazolone in geringer Ausbeute in Erythropterin überföhrbar ist.

Die aus  $\alpha$ -Aminosäuren leicht zugänglichen 2-Trifluormethyl-azlactone<sup>1,2)</sup>, die nach neueren Untersuchungen in der Pseudooxazolone-Form vorliegen<sup>3)</sup>, kondensieren mit *o*-Phenylendiamin zu 2-Hydroxy-chinoxalinen<sup>4)</sup>. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch Umsetzung dieser Pseudooxazolone mit 4.5-Diamino-pyrimidinen Pteridine herzustellen und zwar möglichst nur Xanthopterin-Derivate.

Zu einer isomerenspezifischen Pteridinsynthese ist es bei Verwendung eines 4.5-Diamino-pyrimidins notwendig, daß die Nucleophilie der beiden Aminogruppen möglichst verschieden ist. Bei der zweiten Komponente sollte umgekehrt *eine* C=O- oder analoge Gruppe (C=N-) viel stärker elektrophil sein als die andere.



\*) In der vorliegenden Arbeit wird die deutsche Bezifferung verwendet und für Registrierungszwecke werden alle Pterine als voll heteroaromatisch benannt.

1) F. WEYGAND und U. GLÖCKLER, Chem. Ber. **89**, 653 [1956].

2) F. WEYGAND und W. STEGLICH, Angew. Chem. **73**, 433 [1961].

3) F. WEYGAND, W. STEGLICH, D. MAYER und W. VON PHILIPSBORN, Chem. Ber. **97**, 2023 [1964].

4) F. WEYGAND, W. STEGLICH und H. TANNER, Liebigs Ann. Chem. **658**, 128 [1962].

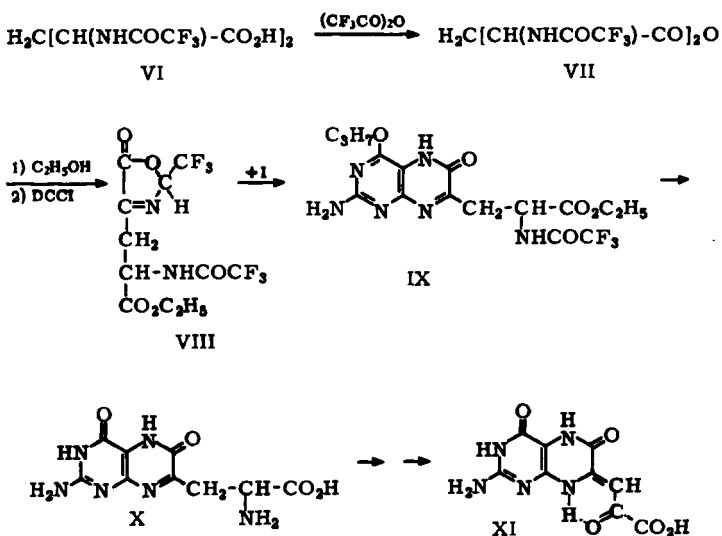
Als geeignete Pyrimidinkomponente erwies sich das von W. PFLEIDERER und R. LOHRMANN<sup>5)</sup> eingeführte 2.4.5-Triamino-6-isopropoxy-pyrimidin (I), dessen 5-ständige Aminogruppe durch die *m*-ständige N-Atome stärker nucleophil ist als die 4-ständige Aminogruppe. Im gleichen Sinne dürfte die *o*-ständige Alkoxygruppe wirken, wenngleich eine gewisse sterische Hinderung dieser Gruppe auf die 5-ständige Aminogruppe in Betracht zu ziehen ist.

Bezüglich der zweiten Komponente, dem 2-Trifluormethyl-pseudooxazolonen-(5) (II) war bekannt, daß bei der Umsetzung mit Aminen, z. B. Aminosäureestern, die C=O-Gruppe bevorzugt vor der C=N-Gruppierung reagiert<sup>1,4)</sup>. Tatsächlich wurden bei der Kondensation von I mit II nach der Hydrolyse nur die 9-substituierten Xanthopterine V aufgefunden.

Die zunächst ausfallenden Verbindungen enthalten nach der Elementaranalyse noch die Elemente des Trifluoracetaldehyds, zeigen aber das selbe UV-Spektrum wie die trifluoracetaldehydfreien Verbindungen. Hieraus und aus der Tatsache, daß mit *o*-Phenylendiamin<sup>3)</sup> oder 2.6-Dimethoxy-4.5-diamino-pyrimidin bei der Kondensation mit II keine fluorhaltigen Produkte erhalten werden, kann auf die Formel III für die zunächst ausfallenden Produkte geschlossen werden, zumal mit salzsaurem 2.4-Dinitrophenylhydrazin Trifluoracetaldehyd-2.4-dinitrophenylhydrazon erhältlich ist.

Durch Umfällen aus Wasser gehen aus III die fluorfreien Verbindungen IV hervor, die durch saure oder alkalische Hydrolyse die 9-substituierten Xanthopterine V liefern.

Die Darstellung von reinem 9-Methyl-xanthopterin, ausgehend von II, R = CH<sub>3</sub>, gelang infolge starker Pterorhodinbildung nicht. Es ließ sich nur papierchromatographisch nachweisen.



<sup>5)</sup> Chem. Ber. 94, 12 [1961].

Um die neue Synthesemöglichkeit von 9-substituierten Xanthopteren an einer biochemisch interessierenden Verbindung zu erproben, wurde die Darstellung von  $\beta$ -[Xanthopteryl-(9)]-DL-alanin unternommen. Das benötigte 2-Trifluormethyl-4-[2-trifluoracetyl-amino-2-äthoxycarbonyl-äthyl]-pseudooxazon-(5) (VIII) wurde aus 2,4-Diamino-glutarsäure über deren *N,N'*-Bis-trifluoracetyl-Derivat VI, das Anhydrid VII und den Monoäthylester mit Dicyclohexylcarbodiimid dargestellt. Das aus VIII durch Kondensation mit I erhältliche Pterin IX lieferte bei energischer Hydrolyse papierchromatographisch einheitliches  $\beta$ -[Xanthopteryl-(9)]-DL-alanin (X). Durch Umsetzung mit Trifluoressigsäureanhydrid wurde daraus das vermutlich an der 2-Stellung *N*-trifluoracetylierte Pseudooxazon erhalten, das bei der Hydrolyse in papierchromatographisch nachweisbaren Mengen Erythropterin (XI)<sup>6)</sup> neben 9-Methyl-xanthopterin lieferte.

Dem BUNDESMINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG danken wir für Unterstützung, Herrn Dr. W. STEGLICH für Diskussionen.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

2-[ $\beta,\beta,\beta$ -Trifluor- $\alpha$ -hydroxy-äthylamino]-8-hydroxy-6-isopropoxy-9-isobutyl-pteridin (IIIa): 3.3 g 2,4,5-Triamino-6-isopropoxy-pyrimidin (I)<sup>5)</sup> wurden in wenig Eisessig gelöst, mit 4.5 g 2-Trifluormethyl-4-isobutyl-pseudooxazon-(5) (II, R = CH<sub>2</sub>·CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sup>7)</sup> versetzt und über Nacht stehengelassen. Es fielen 4 g (59 %) gelbes Produkt aus, Schmp. nach Umfällen aus Eisessig/Petroläther 260–280° (Zers.), *R<sub>F</sub>*-Werte: Auf Kieselgel nach STAHL 0.8 (gelbgrün) und 0.5 (grün) (Chloroform/Methanol/Benzol/konz. Ammoniak, 10:10:20:1 vol.), auf Papier 0.55 (gelbgrün) (4-proz. Ammoniumcitrat), 0.6 (grün) (3-proz. Ammoniumchlorid).

C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> (375.4) Ber. C 48.00 H 5.33 F 15.19 N 18.67  
Gef. C 48.04 H 5.50 F 11.45 N 18.45

2-Amino-8-hydroxy-6-isopropoxy-9-isobutyl-pteridin (IVa): 400 mg IIIa wurden in wenig verd. Kalilauge gelöst. Man gab sogleich verd. Perchlorsäure bis zum Erreichen von pH 9 zu, filtrierte das Kaliumperchlorat ab und fällte das Pteridin mit CO<sub>2</sub> aus. Nach Umfällen aus verd. Ammoniak/CO<sub>2</sub> Ausb. 200 mg (65 %). Das UV-Spektrum (Maxima bei 233, (263) m $\mu$ , Minimum bei 298 m $\mu$ ) in verd. Kalilauge stimmt mit dem von IIIa überein.

C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (227.3) Ber. C 56.03 H 6.91 N 25.24 Gef. C 55.64 H 7.22 N 24.82

9-Isobutyl-xanthopterin (Va): 200 mg IVa wurden 20 Min. in wenig 2*n* KOH gekocht. Nach Zusatz von Essigsäure wurde abgesaugt, mit Wasser und mit Methanol gewaschen und aus heißem Wasser unter Zusatz von wenig verd. Ammoniak umkristallisiert. Ausb. 53 mg (31 %).  $\lambda_{\max}$  in 0.1*n* KOH 250 und 271 m $\mu$ . *R<sub>F</sub>*-Werte auf Papier 0.8 (blau) (Methanol/Wasser/konz. Ammoniak, 70:26:4 vol.), 0.5 (blau) (4-proz. Ammoniumcitrat), 0.52 (blau) (3-proz. Ammoniumchlorid).

C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (235.2) Ber. C 51.05 H 5.57 N 29.77 Gef. C 50.42 H 5.85 N 30.37

<sup>6)</sup> W. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **73**, 581 [1961]; *Chem. Ber.* **95**, 2195 [1962]; W. VON PHILIPSBORN, H. STIERLIN und W. TRABER, *Helv. chim. Acta* **46**, 2592 [1963]. Synthesen: M. VISCONTINI und H. STIERLIN, *Helv. chim. Acta* **44**, 1783 [1961]; C. SCHÖPF und K. H. GÄNSHIRT, *Angew. Chem.* **74**, 153 [1962]; *Angew. Chem. internat. Edit.* **1**, 115 [1962]. Herrn Prof. VISCONTINI danken wir für die Überlassung von Erythropterin.

<sup>7)</sup> Vgl. l. c.<sup>4)</sup>, dort noch als Oxazonol bezeichnet.

Das 9-Isobutyl-xanthopterin-hydrochlorid kann aus IVa durch Kochen in halbkonz. Salzsäure (20 Min.) in farblosen, verfilzten Nadeln erhalten werden. Beim Lösen in Wasser tritt die gelbe Farbe auf.

$C_{10}H_{13}N_5O_2 \cdot HCl$  (271.7) Ber. C 44.2 H 5.15 N 25.8 Gef. C 43.5 H 5.28 N 25.5

2-[ $\beta,\beta,\beta$ -Trifluor- $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -thylamino]-8-hydroxy-6-isopropoxy-pteridin-propionsäure-(9)- $\alpha$ -thylester (IIIb): 1 g 2-Trifluormethyl-4-[ $\beta$ - $\alpha$ -thoxycarbonyl- $\alpha$ -thyl]-pseudooxazolonen-(5)<sup>8)</sup> und 0.5 g I wurden in wenig Eisessig unter Erwärmen gelöst. Nach Zugabe von 0.8 g Cyaneisessigester ließ man unter Stickstoff 14 Tage bei Raumtemperatur stehen. Der ausgefallene Niederschlag wurde abgesaugt und mit Eisessig gewaschen. Ausb. 0.5 g (16%),  $\lambda_{max}$  in Äthanol 385 m $\mu$ .

$C_{16}H_{20}F_3N_5O_5$  (419.4) Ber. C 45.83 H 4.81 F 13.59 N 16.70  
Gef. C 45.85 H 4.95 F 11.10 N 16.80

2-Amino-8-hydroxy-6-isopropoxy-pteridin-propionsäure-(9)- $\alpha$ -thylester (IVb): 100 mg IIIb wurden in verd. Ammoniak wenige Sek. zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde filtriert und mit konz. Salzsäure bis auf pH 5 angesäuert. Nach Aufbewahren im Eisschrank wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Die Verbindung wurde nicht gereinigt.

$C_{14}H_{19}N_5O_4$  (321.7) Ber. C 52.35 H 5.95 N 21.78 Gef. C 50.30 H 5.90 N 20.70

9-[ $\beta$ -Carboxy- $\alpha$ -thyl]-xanthopterin (Vb): 100 mg IVb wurden in halbkonz. Salzsäure 35 Min. zum Sieden erhitzt. Nach dem Eindampfen i. Vak. wurde mit Kaliumhydroxyd alkalisch gemacht und CO<sub>2</sub> eingeleitet, bis pH 7 erreicht war. Dann gab man noch etwas Essigsäure zu und zentrifugierte den Niederschlag ab. Er wurde nach wiederholtem Digerieren mit Wasser, Äthanol und Äther abgesaugt. Ausb. 20 mg (34%).

$C_9H_9N_5O_4 \cdot H_2O$  Ber. C 37.6 H 4.6 N 24.4 Gef. C 37.0 H 3.8 N 23.0

2.4-Bis-trifluoracetyl-amino-glutarsäure (VI): 0.5 g 2.4-Diamino-glutarsäure (racem. + meso-Form)<sup>9)</sup>, 1.7 g Trifluoressigsäure-thiophenylester und 1 g Natriumhydrogencarbonat wurden 20 Stdn. mit 9 ccm Wasser gerührt. Sodann wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand in verd. Salzsäure aufgenommen, Diphenylsulfid abfiltriert und erneut eingedampft. Die durch Extraktion mit Essigester erhaltene Verbindung wurde in Wasser gelöst und mit Ionenaustauscher Dowex 50X8 gerührt. Beim Eindampfen erstarrte das Produkt zu einer glasigen, hygroskopischen Masse (0.8 g).

$C_9H_8F_6N_2O_6$  (354.2) Ber. C 30.55 H 2.27 N 7.91 Äquiv.-Gew. 177  
Gef. C 30.90 H 3.10 N 7.10 Äquiv.-Gew. 171 (titrimetr. in Äthanol)

2.4-Bis-trifluoracetyl-amino-glutarsäure-mono $\alpha$ -thylester: 1.5 g VI wurden in 20 ccm Trifluoressigsäureanhydrid 1 Stde. kräftig geschüttelt. Man dampfte die halberstartete Masse i. Vak. ein und ließ den Rückstand über KOH stehen. 3 g des rohen Anhydrids wurden in 20 ccm absol. Äthanol unter kurzem Erwärmen gelöst, nach 20 Min. wurde i. Vak. eingedampft. Ohne weitere Reinigung wurde der Mono $\alpha$ -thylester zur Darstellung von IX verwendet.

Zur Charakterisierung stellte man das Dicyclohexylammoniumsalz in Äthanol unter Zusatz von Benzol her (langsameres Eindunsten), Schmp. 158°.

$C_{11}H_{12}F_6N_2O_6[C_{12}H_{23}N]$  (563.5) Ber. C 49.02 H 6.26 N 7.46 Gef. C 48.57 H 6.19 N 7.73

<sup>8)</sup> Dissertat. H. TANNER, Techn. Hochschule München 1963.

<sup>9)</sup> J. P. GREENSTEIN und M. WINITZ, Chemistry of the Amino Acids, J. Wiley & Sons, New York 1961.

*N*-Trifluoracetyl- $\beta$ -[2-amino-8-hydroxy-6-isopropoxy-pteridyl-(9)]-DL-alanin (IX): 2 g des rohen Monoäthylesters (voranstehend) und 1.1 g Dicyclohexylcarbodiimid wurden in Methylenchlorid  $3\frac{1}{2}$  Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Der gebildete Dicyclohexylharnstoff wurde abfiltriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand, rohes Pseudooxazon VIII enthaltend, wurde mit 900 mg I in Eisessig eine Woche stehengelassen, worauf der gebildete Niederschlag abgesaugt und mit Benzol gewaschen wurde. Ausb. 500 mg (29%), Schmp. 232° (aus Eisessig/Petroläther).

$C_{16}H_{19}F_3N_6O_5 \cdot CH_3CO_2H$  (492.4) Ber. C 43.91 H 4.71 N 17.06  
Gef. C 43.48 H 5.18 N 16.32

Durch Dünnschichtchromatographie kann in der Mutterlauge neben dem Hauptprodukt in geringer Menge eine Verbindung mit dem 4-O-Alkyl-isoxanthopterin-Spektrum nachgewiesen werden.

$\beta$ -[Xanthopteryl-(9)]-DL-alanin (X): 150 mg rohes IX wurden 35 Min. in 3*n* HCl gekocht. Nach dem Abkühlen wurde noch von etwas Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und auf dem Wasserbad eingedampft. Den Rückstand löste man in 4 ccm Wasser und stumpfte mit wenig Ammoniak ab. Man brachte zum Sieden und ließ langsam abkühlen. Der gelbe Niederschlag wurde mit Wasser, Äthanol und Äther gewaschen. Ausb. 60 mg (70%). Das UV-Spektrum zeigt die Xanthopterin-Absorption, der Ninhydrintest ist positiv.  $R_F$  0.4 (grün) auf Papier (mit 3-proz. Ammoniumchlorid).

$C_9H_{10}N_6O_4 \cdot H_2O$  (284.2) Ber. C 38.04 H 4.25 N 29.56 Gef. C 37.41 H 4.01 N 28.09

*Bildung von Erythropterin (XI) aus X*: 30 mg X in 0.5 ccm Trifluoressigsäure wurden nach Zugabe von 2 ccm Trifluoressigsäureanhydrid 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach 2-tägigem Stehenlassen wurde i. Vak. eingedampft und der Rückstand in 2*n* NaOH 2 Min. gekocht. Man trennte sofort papierchromatographisch (Papier Schleicher & Schüll 2040 b) mit 4-proz. Natriumhydrogencarbonat als Laufmittel auf: Bei  $R_F$  0.3 trat wie mit authent. Erythropterin (von Prof. VISCONTINI<sup>6)</sup>) ein schwach rotbrauner Fleck auf. Die Fluoreszenz war unbedeutend. Die Substanz wurde eluiert und zeigte ein mit Erythropterin übereinstimmendes Absorptionsspektrum. Bei der Papierchromatographie mit Methanol/Ammoniak/Wasser, 70:26:4 vol.) zeigte die Verbindung wie Erythropterin den  $R_F$ -Wert 0.2 (gelb), Verunreinigung bei  $R_F$  0.05 (intensiv gelb). Die Verbindung lieferte beim Kochen (5 Min.) mit verd. Natronlauge papierchromatographisch nachweisbares 9-Methyl-xanthopterin ( $R_F$  0.4, 3-proz. Ammoniumchlorid), Erythropterin war noch vorhanden.

8-Hydroxy-2.6-dimethoxy-9-isobutyl-pteridin: 0.6 g 4.5-Diamino-2.6-dimethoxy-pyrimidin<sup>5)</sup> wurden in wenig Eisessig mit 1.1 g 2-Trifluormethyl-4-isobutyl-pseudooxazon-(5) (II, R =  $CH_2 \cdot CH(CH_3)_2$ ) versetzt und 24 Stdn. bei 20° stehengelassen. Der abgesaugte und mit Eisessig und Cyclohexan gewaschene Niederschlag zeigte nach Umfällen aus Essigester/Petroläther nur noch 0.3% F-Gehalt. Nach Umkristallisieren aus Methanol farbloses, in Wasser schwer lösliches Produkt.

$C_{12}H_{16}N_4O_3$  (264.2) Ber. C 54.56 H 6.10 N 21.19 Gef. C 53.63 H 5.68 N 20.96

Zwecks Hydrolyse zum 2.6.8-Trihydroxy-9-isobutyl-pteridin wurde mit verd. Kaliumhydroxyd 30 Min. gekocht, essigsauer gemacht, abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Die farblose Lösung fluoresziert violett.  $R_F$  auf Papier 0.7 (himmelblau) (3-proz. Ammoniumchlorid). UV-Spektrum bei pH 11.5  $\lambda_{max}$  252 und 270 m $\mu$  (schwach),  $\lambda_{min}$  298 m $\mu$ ; pH 1  $\lambda_{max}$  260 m $\mu$  (breit),  $\lambda_{min}$  298 m $\mu$ .