

Pteridine, LXIX¹⁾

Synthese und Reaktivität des 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)-pteridins

Peter H. Boyle*)^a und Wolfgang Pfeleiderer*

Department of Chemistry, Trinity College^a,
Dublin 2, Ireland, und

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz,
Postfach 5560, D-7750 Konstanz

Eingegangen am 23. Juli 1979

Die Kondensation von 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidin (**2**) mit 1,3-Dihydroxyaceton in Gegenwart von Sauerstoff anstelle von Luft führt in guter Ausbeute zu 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin (**3**) ohne nennenswerte Bildung von 2,4-Diamino-6-methylpteridin (**4**). Acetylierung von **3** liefert das 6-Acetoxyethyl-2,4-bis(acetylamino)pteridin (**5**), das sich als erstaunlich labile Verbindung erwies und leicht unter hydrolysierenden Bedingungen in verschiedene Di- und Monoacetyl-Derivate (**6**, **7**, **9**, **10**) übergeht. Ihre Konstitutionen werden durch physikalisch-chemische Untersuchungen gesichert. Durch Silylierung von **3** zum 6-Trimethylsiloxymethyl-2,4-bis(trimethylsilylamino)pteridin (**11**) und dessen Glycosidierung mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**12**) bzw. 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**15**) unter BF_3 -Katalyse entstehen in selektiver Reaktion die acylierten 2,4-Diamino-6-pteridinylmethyl-*O*-glycoside **13** bzw. **16**. Entacylierung ergibt die freien *O*-Glycoside **14** und **17**, die durch UV- und NMR-Spektren sowie pK_a -Messungen charakterisiert werden.

Pteridines, LXIX¹⁾

Synthesis and Reactivity of 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridine

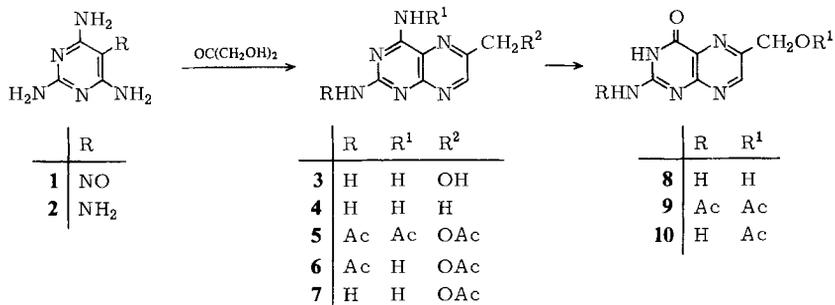
Condensation of 2,4,5,6-tetraaminopyrimidine (**2**) with 1,3-dihydroxyacetone in the presence of gaseous oxygen, rather than air, resulted in 2,4-diamino-6-(hydroxymethyl)pteridine (**3**) virtually uncontaminated with 2,4-diamino-6-methylpteridine (**4**). Acetylation of **3** led to 6-acetoxyethyl-2,4-bis(acetylamino)pteridine (**5**) which turned out to be very labile forming various di- and monoacetyl derivatives (**6**, **7**, **9**, **10**) on mild hydrolytic conditions. Their structures are proven by physical-chemical means. Silylation of **3** to the tris(trimethylsilyl) derivative **11** followed by treatment with 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**12**) and 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**15**), respectively, in the presence of boron trifluoride, led to selective formation of the corresponding acylated 2,4-diamino-6-pteridinyl *O*-glycosides **13** and **16**, respectively. Deacylations of these afforded the free *O*-glycosides **14** and **17** which have been characterized by UV- and NMR spectra as well as pK_a measurements.

Neuere Untersuchungen in der Folsäure-Chemie haben gezeigt, daß das 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin (**3**) ein vielseitig verwendbares Syntheton zum Aufbau von Folsäure-Analoga darstellt und sich auf dieser Basis solche wichtige Pharmaka wie das Aminopterin und Methotrexat darstellen lassen.

*) Alexander von Humboldt-Stipendiat, Konstanz 1975/76.

xate synthetisch leicht in reiner Form gewinnen lassen^{2,3}). Da die beschriebenen Synthesen für 3 jedoch keineswegs optimiert und zufriedenstellend sind und die Chemie dieser Substanz kaum untersucht ist, haben wir uns mit diesem Problem etwas eingehender beschäftigt.

3 wird gewöhnlich durch Kondensation von 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidin (2) und 1,3-Dihydroxyaceton dargestellt, wobei jedoch gleichzeitig mehr oder weniger große Mengen an 2,4-Diamino-6-methylpteridin (4)^{2,4}) sowie den entsprechenden 7-substituierten Derivaten als Nebenprodukte entstehen. Trotz vielfältiger Variation der Reaktionsbedingungen gelang es bislang nur mit wechselndem Erfolg, die Bildung der Begleitsubstanzen zurückzudrängen, so daß sich die eindeutige Synthese von 3 nach wie vor als problematisch erweist. Piper und Montgomery²) stellten fest, daß unter den Bedingungen von Baugh und Shaw⁵) das 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin (3) noch ca. 20% an 4 enthält. Die Trennung dieser chemisch sehr ähnlichen Verbindungen ist erst in jüngster Zeit³) über das schwerlösliche Hydrobromid von 3 befriedigend gelungen. In einer jüngst bekanntgewordenen Studie von Ellard⁶) wird gezeigt, daß sich eine genaue pH-Kontrolle während der Kondensation sowie der Ausschluß von Acetat-Puffer sehr vorteilhaft auf die bevorzugte Bildung von 3 auswirkt. Die Nebenreaktion zu 4 konnte aus einer primären Transformation des Dihydroxyacetons zum Methylglyoxal im Sinne einer Lobry de Bruyn-van Ekenstein-Umlagerung⁷) und dessen Kondensation mit 2 stammen⁵) oder aber, wie früher⁸) vorgeschlagen wurde, durch Dehydratisierung des zunächst gebildeten 6-(Hydroxymethyl)dihydropteridin-Derivats und Isomerisierung der exocyclischen 6-Methylen-Funktion entstanden sein. In Anbetracht letzteren Reaktionsverlaufs darf erwartet werden, daß bei Anwendung effektiverer Oxidationsbedingungen der Dehydratisierung und damit der Bildung von 4 entgegengewirkt werden kann.



Unter unseren Reaktionsbedingungen zur Synthese des 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridins (3) wird zunächst das erforderliche 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidin (2) durch katalytische Hydrierung des 2,4,6-Triamino-5-nitrosopyrimidins (1) mit Raney-Nickel/H₂ dargestellt und dann ohne Isolierung sofort in Ammoniumchlorid-Lösung mit 1,3-Dihydroxyaceton bei Gegenwart von Cystein als Antioxidans nach den allgemeinen Angaben von Baugh und Shaw⁵) kondensiert. Der entscheidende Punkt dieser mechanistisch ungeklärten Reaktion ist die Verwendung von reinem Sauerstoff anstelle von Luft, um eine möglichst rasche, unter milden Bedingungen verlaufende Überführung des intermediären Dihydropteridin-Derivats in die entsprechende heteroaromatische Form zu gewährleisten. Auf diesem Wege gelingt es dann, routinemäßig größere Mengen an 3 in bis zu 60% Ausbeute darzustellen, wobei sich das Hydrochlorid entweder chromatographisch rein oder nur minimal mit 4 verunreinigt direkt aus der Reaktionslösung abscheidet. In Parallelexperimenten mit Luft als Oxidationsmittel enthielt

das Reaktionsprodukt, wie NMR-spektroskopisch festgestellt wurde, wechselnde Mengen an **4** zwischen 15 und 20%.

Die Acetylierung von 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin (**3**) in siedendem Acetanhydrid führt, wie aus Dünnschichtchromatogrammen ersichtlich ist, zu einem komplexen Substanzgemisch, aus dem sich jedoch durch Aceton/Methanol-Behandlung als schwerstlösliche Komponente ein Triacetat gewinnen läßt. Aufgrund des NMR-Spektrums, das drei verschiedene Methyl-Signale zeigt, schreiben wir diesem Produkt, das durch Umkristallisation aus Acetanhydrid rein erhalten wird, die Konstitution des 6-Acetoxy-methyl-2,4-bis(acetylamino)pteridins (**5**) zu. **5** stellt eine erstaunlich labile Verbindung dar, die sich schon beim Umkristallisieren aus gängigen Lösungsmitteln wie Methanol, Ethanol, n-Butanol oder Acetonitril merklich verändert. Man stellt selbst beim Chromatographieren an Kieselgel bzw. beim Rühren einer methanolischen Chloroform-Lösung in Gegenwart des Adsorbens, unter Bedingungen also wie sie während der Elution nach einer schichtchromatographischen Trennung vorliegen, partielle Zersetzung fest. In gleicher Weise wird dieser Abbau, der in Abhängigkeit von den jeweiligen Bedingungen zu einer unterschiedlichen Mengenverteilung derselben Umwandlungsprodukte führt, auch durch saures oder basisches Aluminiumoxid begünstigt.

Die beiden Hauptprodukte der Kieselgel-Behandlung von **5** in Chloroform/Methanol wurden isoliert und als 6-Acetoxy-methyl-2-acetylamino-4-amino- (**6**) und 6-Acetoxy-methyl-2,4-diaminopteridin (**7**) anhand ihrer spektroskopischen Eigenschaften charakterisiert. In beiden Produkten zeigt sich die 6-Acetoxy-methyl-Gruppe am Singulett-Signal der Methylenprotonen und des fehlenden OH-Signals im NMR-Spektrum in $[D_6]DMSO$ an, und auch in den IR-Spektren ist die Ester-Carbonyl-Streckschwingung bei 1735 bzw. 1730 cm^{-1} stark ausgeprägt. Ferner ist in **6** ein Amid-NH-Proton bei $\delta = 10.11$ vorhanden, während das NMR-Spektrum von **7** nur zwei breite NH_2 -Signale aufweist. Die UV-Spektren der drei Acetyl-Verbindungen **5**, **6** und **7** sind charakteristisch verschieden, wie dies aufgrund der unterschiedlichen Substitution an den Amino-Gruppen auch erwartet wird. Die UV-Spektren von **3** und **7** zeigen große Ähnlichkeit als Neutramoleküle und Kationen, und auch die Übereinstimmung in den basischen Eigenschaften, ersichtlich aus den basischen pK_a -Werten (Tab.), spricht für die strukturelle Verwandtschaft. Die Konstitution **6** leiten wir aus der Tatsache ab, daß das Maximum des in der Längsrichtung des Moleküls polarisierten langwelligen Chromophors von **7** beträchtlich hypsochrom auf 355 nm verschoben ist, wie man dies bei einer Acylierung an der 2-Amino-Gruppe erwartet. Eine Acetylierung an der 4-Amino-Funktion übt dem gegenüber einen vergleichsweise viel geringeren Effekt aus.

Die große Hydrolyse-Empfindlichkeit von **5** steht nicht für sich allein, sondern ist wohl als ein Charakteristikum von Acylamino-pteridin-Derivaten allgemein zu werten, da sich auch das 2,4-Bis(acetylamino)pteridin⁹⁾ in methanolischer Chloroform-Lösung beim Rühren mit Kieselgel bei Raumtemperatur zersetzt. Es entstehen zwei Abbauprodukte, von denen die langsamer wandernde Substanz durch chromatographischen Vergleich mit authentischem 2,4-Diaminopteridin als solches identifiziert werden konnte. In der Purin-Reihe wird berichtet¹⁰⁾, daß die N^6 -Benzoyl-Gruppe ebenfalls durch Alkohol-Behandlung abgespalten werden kann.

Beim Kochen des Triacetates **5** in Wasser entstehen zwei weitere neue Umwandlungsprodukte, bei denen es sich nach Elementaranalyse, Massenspektren und spektroskopi-

Tab.: Physikalische Daten von 2,4-Diamino- und 2-Amino-6-hydroxymethyl-4-oxo-3,4-dihydropteridinen

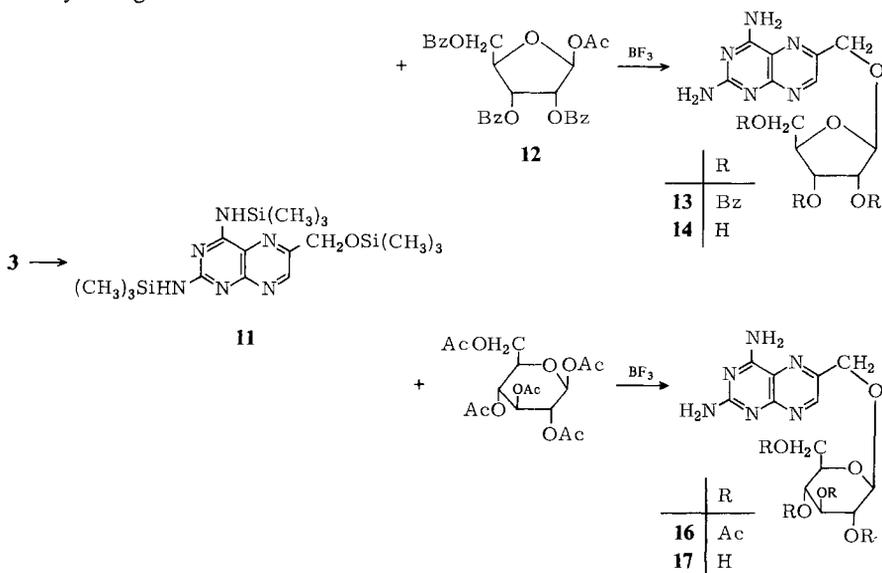
	pK _a -Wert in H ₂ O	UV-Absorptionsspektren				lg ε	pH- Wert	Mole- külarität
		λ _{max} (nm)	ε	λ _{max} (nm)	ε			
4	5.33 ± 0.08	242	337	4.19	3.71	4.02	3.0	+
		227	281	4.09	[3.72]	[3.92]	8.0	0
3	5.02 ± 0.08	227	336	4.08	[3.71]	4.02	MeOH	0
		226	284	4.07	3.71	[3.96]	2.0	+
7	4.66 ± 0.1	244	335	4.21	3.74	4.01	8.0	0
		226	287	4.07	3.74	[3.95]	2.0	+
6	2.30 ± 0.08	227	321	4.03	4.49	3.82	7.0	0
		213	261	4.17	[4.09]	[3.74]	MeOH	0
5	7.93 ± 0.05	214	329	4.36	3.99	4.02	MeOH	0
		[208]	259	[4.23]	4.49	[3.77]	1.0	+
8	7.88 ± 0.06	[210]	260	[4.22]	4.49	3.93	7.0	0
		247	320	4.12	4.49	3.93	MeOH	0
10	2.07 ± 0.07	235	321	4.03	4.03	3.93	0.0	+
		254	321	4.08	4.14	3.80	5.0	0
9	6.99 ± 0.1	246	312	4.35	3.92	3.87	11.0	-
		234	312	4.05	[3.79]	3.87	0.0	+
13	4.53 ± 0.1	254	336	4.11	4.16	3.91	0.0	+
		232	336	4.34	[3.80]	3.85	5.0	0
14	4.98 ± 0.1	231	335	4.07	3.92	3.88	10.0	-
		225	335	4.20	3.94	3.60	-3.0	+
16	4.73 ± 0.1	243	335	4.46	[3.78]	3.94	3.0	0
		243	335	4.44	[3.99]	3.91	9.0	-
17	4.87 ± 0.05	260	335	4.67	[3.99]	3.88	MeOH	0
		231	336	4.83	[4.06]	3.96	2.0	+
16	4.73 ± 0.1	244	336	4.54	3.69	4.00	7.0	0
		225	336	4.06	3.74	4.02	1.0	+
17	4.87 ± 0.05	243	335	4.21	3.74	4.02	7.0	0
		243	335	4.35	3.70	4.01	2.0	+
17	4.87 ± 0.05	243	335	4.23	3.70	4.01	7.0	0
		258	370	4.37	3.87	3.87	7.0	0

+ = Kation; 0 = Neutralmolekül; - = Monoanion; [] = Schulter.

schen Eigenschaften um Mono- bzw. Diacetylpteridin-Derivate handeln muß. Es wird unter diesen Bedingungen die 4-Acetylamino-Gruppe direkt durch nucleophilen Angriff des Wassers am Ring-C-Atom hydrolysiert unter Bildung des 6-Acetoxyethyl-2-acetylamino-4-oxo-3,4-dihydropteridins (**9**), das dann durch weitere Verseifung in das 6-(Acetoxyethyl)pterin (**10**) übergeht. Ein chemischer Beweis für diese Konstitutionen konnte durch Acetylierung des durch alkalische Hydrolyse⁵⁾ von **3** dargestellten 6-(Hydroxymethyl)pterins (**8**) zum bekannten Diacetat **9**^{11,12)} bzw. dessen selektive *N*-Entacetylierung zu **10** durch kochendes Wasser erbracht werden. Die direkte Hydrolyse einer Acetylamino-Gruppe zur Oxodihydro-Funktion ist in der Pteridin-Reihe früher schon einmal bei der Säurebehandlung des 2-Acetylamino-1,6,7-trimethyl-4-oxo-1,4-dihydropteridins¹³⁾ beobachtet worden und stellt wohl einen Sonderfall dar, der nur bei speziellen strukturellen Gegebenheiten in Erscheinung tritt.

Die Acetylierungen des 2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridins (**3**) haben wir ursprünglich unter dem Gesichtspunkt einer Blockierung der Amino-Gruppen durchgeführt, um so die alkoholische Funktion für Glycosidierungen selektiv nach einer *Koenigs-Knorr*-Synthese zur Reaktion bringen zu können.

(6-Pteridinylmethyl)-glycoside stellen einen interessanten Naturstoff-Typ dar, der speziell in Algen¹⁴⁾ bzw. im Pilz *Aspergillus oryzae*¹⁵⁾ weit verbreitet vorkommt und für den bislang noch kein synthetischer Zugang beschrieben ist. Da die direkte Glycosidierung von **3** unter verschiedenen Reaktionsbedingungen nicht gelang, haben wir das Ausgangsmaterial zunächst mit Hexamethyldisilazan in bekannter Weise silyliert und dann das 6-Trimethylsiloxymethyl-2,4-bis(trimethylsilylamino)pteridin (**11**) mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5,-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**12**) in Ethylacetat unter BF_3 -Etherat-Katalyse umgesetzt.



In einem recht einheitlichen Reaktionsverlauf wird als Hauptprodukt ein Monoribosid gebildet, das sich chromatographisch in 72% Ausbeute isolieren läßt und dem wir

aufgrund früherer Befunde¹⁶⁾ über die erstaunlich hohe Reaktivität der Trimethylsilylether-Funktion die Konstitution des 2,4-Diamino-6-[(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosyloxy)methyl]pteridins (**13**) zuschreiben. Mit dieser Konstitution stehen auch sämtliche spektroskopischen Eigenschaften der Substanz in Einklang, wie vor allem die große Ähnlichkeit bzw. Identität der UV-Spektren von **13** bzw. seinem entbenzoylierten Derivat **14** mit **7**, ihre übereinstimmenden pK_a -Werte (Tab.) sowie das ¹H-NMR-Spektrum erkennen lassen. Letzteres ist allerdings wenig aufgelöst, eignet sich aber zur Bestimmung der Konfiguration der glycosidischen Bindung recht gut, da sich neben mehreren Multipletts der Aromaten- und Zuckerprotonen das Anomerenproton bei $\delta = 5.46$ als scharfes Singulett zeigt und dadurch die β -Verknüpfung von Zucker und Aglycon nach der *Karplus*-Beziehung¹⁷⁾ sichert. Ferner unterstreicht auch das Massenspektrum, das den Molekülion-Peak bei m/e 636 nur mit kleiner Intensität zeigt, durch das Auftreten der Signale m/e 175 und 191, die wir dem 2,4-Diamino-6-pteridinylmethyl- und -methoxy-Fragment zuordnen, die *O*-Glycosid-Struktur. Nach Entbenzoylierung von **13** mit Methylat zum 2,4-Diamino-6-[(β -D-ribofuranosyloxy)methyl]pteridin (**14**) tritt im ¹H-NMR-Spektrum in [D₆]DMSO/D₂O als charakteristisches Signal ein AB-Quartett mit dem Zentrum bei $\delta = 4.71$ in Erscheinung, das nach der vorliegenden Struktur der exocyclischen Methylen-Gruppe mit ihren diastereotopen Protonen zugeordnet wird.

Die Glucosidierung von **3** konnte entsprechend über das Silyl-Derivat **11** mit 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**15**) in Benzol bei Gegenwart von BF₃-Etherat realisiert werden, jedoch bereitete die Isolierung des 2,4-Diamino-6-[(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyloxy)methyl]pteridins (**16**) infolge der Bildung mehrerer Nebenprodukte, von denen nur noch das 6-Acetoxy-methyl-2,4-diaminopteridin (**7**) abgetrennt und identifiziert wurde, größere Schwierigkeiten. Die Entacylierung nach *Zemplén*¹⁸⁾ zum freien *O*-Glucosid **17** war dagegen problemlos.

16 und **17** schließen sich in ihren physikalischen Eigenschaften an die Riboside **13** und **14** an und zeigen ein entsprechendes spektroskopisches Verhalten (Tab.). Im ¹H-NMR-Spektrum von **17** findet sich als charakteristisches Signal wiederum das AB-Quartett der exocyclischen Methylenprotonen bei $\delta = 4.84$, und daneben beweist das Dublett des Anomerenprotons bei $\delta = 4.33$ mit seiner Kopplungskonstanten von $J_{1,2} = 8$ Hz das Vorliegen eines β -Glucopyranosids.

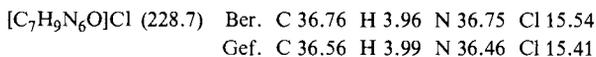
Abschließend sei darauf hingewiesen, daß speziell die freien *O*-Glycoside lichtempfindliche Substanzen sind, deren photochemische Veränderungen Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein werden.

Wir danken der *Alexander von Humboldt-Stiftung* für ein Stipendium und Frau *M. Bischler* und Herrn *E. Pilz* für die Bestimmung der physikalischen Daten und Aufnahme der Spektren.

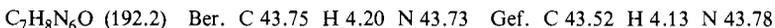
Experimenteller Teil

UV-Absorptionsspektren: Cary-Recording-Spektrometer, Modell 118, der Fa. Applied Phys. Corp. – IR-Spektren: Perkin-Elmer, Gitterspektrophotometer 621. – NMR-Spektren: Jeol JNM-MH-100, Bruker WP 90 bzw. HFX 90. – Massenspektren: Varian-MAT CH 7. – DC: Fertigfolien Kieselgel F 1500 LS 254 und Cellulose F 1440 der Fa. Schleicher & Schüll. – Säulenchromatographie: Kieselgel (Korngröße 0.05–0.2 mm) der Fa. Merck. – Die Bestimmung der pK_a -Werte erfolgte nach der spektrophotometrischen Methode¹⁹. – Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin (3): Eine Suspension von 6.0 g 2,4,6-Triamino-5-nitrosopyrimidin (**1**)⁹ in 200 ml Wasser wird mit 5 g feuchtem Raney-Nickel in der Schüttelente bei Raumtemp. hydriert. Nachdem die Wasserstoffaufnahme zum Stillstand gekommen ist (24 h), wird rasch vom Katalysator abgesaugt und das Filtrat (oxidationsempfindlich) mit einer auf 5 °C abgekühlten Lösung von 100 g Ammoniumchlorid, 6.0 g Cystein-hydrochlorid und 11.0 g 1,3-Dihydroxyaceton (dimer) in 250 ml Wasser versetzt. Unter Rühren wird durch eine Glasfritte Sauerstoff durch die Lösung geleitet, wobei sich unter Verfärbung über Gelb nach Rötlich-braun beginnend nach ca. 6–8 h ein gelb-brauner Niederschlag abscheidet. Nach 36 h wird der Niederschlag gesammelt, mit wenig kaltem Wasser und Ethanol gewaschen und ergibt nach Trocknen 6.2 g (70%) nahezu chromatographisch reines **2,4-Diamino-6-(hydroxymethyl)pteridin-hydrochlorid** (**3** · HCl) vom Schmp. >300 °C. Durch Umkristallisation aus wenig 1 N HCl mit Aktivkohle wird ein hellgelbes Kristallpulver vom Schmp. >300 °C erhalten.



0.5 g (2.2 mmol) **3** · HCl werden in 30 ml heißem Wasser gelöst und dann 2 ml konz. Ammoniak zugegeben. Es scheidet sich ein gelber Niederschlag ab, der nach Abkühlen gesammelt, mit Ethanol gewaschen und bei 100 °C getrocknet wird. Ausb. 0.34 g (81%) gelbliches Kristallpulver vom Schmp. >300 °C.



6-Acetoxyethyl-2,4-bis(acetylamino)pteridin (5): 3.6 g (15.7 mmol) **3** · HCl werden in 400 ml Acetanhydrid 6 h unter Rückfluß gekocht und anschließend die braune Lösung i. Vak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mit einem warmen Gemisch aus 30 ml Aceton und 7 ml Methanol behandelt, vom Ungelösten abfiltriert und dann der Niederschlag erneut mit demselben Gemisch in der Wärme digeriert. Nach Filtrieren wird der braun-rote Niederschlag zweimal aus Acetanhydrid mit Aktivkohle umkristallisiert, wobei 1.0 g (20%) farblose Kristalle vom Schmp. 205 °C (Zers.) erhalten werden.

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.15 (s; CH₃), 2.31 (s; CH₃), 2.62 (s; CH₃), 5.39 (s; 2H, CH₂), 9.18 (s; 1H, 7-H), 10.09 (bs; NH). – MS (70 eV): m/e = 318 (M⁺, 100%), 276 (35%), 275 (22%), 192 (87%), 191 (58%).



6-Acetoxyethyl-2-acetylamino-4-aminopteridin (6): 0.3 g (1.0 mmol) **5** werden in einem Gemisch aus 1080 ml Chloroform und 120 ml Methanol gelöst, dann mit 300 g Kieselgel 60 für Säulenchromatographie der Fa. Merck versetzt und 2 d bei Raumtemp. gerührt, bis im DC das Ausgangsmaterial verschwunden und zwei neue Produkte entstanden sind. Man gießt die Suspension in eine große Säule, läßt das Lösungsmittel ab und eluiert anschließend nochmals mit einem Gemisch aus 420 ml Chloroform und 280 ml Methanol. Die gesamten Eluate werden eingengt, der Rückstand auf eine Kieselgelsäule von 200 g Kieselgel 60 aufgegeben und dann erneut mit einem Gradienten von 1–20proz. Methanol in Chloroform (2 l) entwickelt und eluiert. Die erste Fraktion enthält 0.133 g leicht unreines **6**, das nach Behandlung mit warmem 10proz. methanolischem

Chloroform und anschließendem Umkristallisieren aus Ethanol 0.045 g (17%) farblose Kristalle vom Schmp. 230–240°C (Zers.) ergibt.

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.13 (s; 3H, CH₃), 2.30 (s; 3H, CH₃), 5.28 (s; 2H, CH₂), 8.10 (s; 2H, NH₂), 8.95 (s; 1H, 7-H), 10.11 (bs; NH). – MS (70 eV): *m/e* = 276 (M⁺, 85%), 234 (33%), 192 (100%).

C₁₁H₁₂N₆O₃ (276.3) Ber. C 47.83 H 4.38 N 30.42 Gef. C 48.32 H 4.06 N 30.03

6-Acetoxyethyl-2,4-diaminopteridin (7): Bei vorstehender Säulenchromatographie wird nach Abtrennung von **6** zunächst eine Zwischenfraktion bestehend aus **6** und **7** (57 mg) erhalten, und nachfolgend gewinnt man aus der letzten Fraktion nach Einengen und Umkristallisation aus Wasser 0.044 g (20%) gelbliche Kristalle vom Schmp. 275–285°C (Zers.).

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.08 (s; 3H, CH₃), 5.18 (s; 2H, CH₂), 6.66 (s; 2H, NH₂), 7.59 (s; 2H, NH₂), 8.74 (s; 1H, 7-H). – MS (70 eV): *m/e* = 234 (M⁺, 32%), 192 (100%), 191 (41%).

C₉H₁₀N₆O₂ (234.2) Ber. C 46.15 H 4.30 N 35.88 Gef. C 46.12 H 4.22 N 35.94

6-(Hydroxymethyl)pterin (**8**)⁵: 1.5 g (6.6 mmol) **3** · HCl werden in 300 ml 0.5 N KOH 1 h unter Rückfluß gekocht, mit Aktivkohle behandelt und heiß filtriert. Man säuert in der Siedehitze mit Essigsäure bis pH 4 an, läßt abkühlen, sammelt den Niederschlag und kristallisiert aus 2.1 l Wasser um, wobei 0.88 g (69%) gelbliches Kristallpulver vom Schmp. >300°C erhalten wird. – ¹H-NMR (CF₃CO₂H): δ 5.26 (s; 2H, CH₂), 9.07 (s; 1H, 7-H).

6-Acetoxyethyl-2-acetylamino-4-oxo-3,4-dihydropteridin (**9**)¹²: a) 0.3 g (1.0 mmol) **5** werden in 15 ml Wasser 1.5 h unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen scheiden sich 0.11 g gelblicher Niederschlag ab, welcher aus den drei Komponenten **7**, **9** und **10** besteht. Man trennt über eine Kieselgelsäule mit einem Gradienten von 4–15proz. Methanol in Chloroform auf und erhält aus der ersten Fraktion nach Einengen und Umkristallisation aus Wasser 0.043 g (16%) farblose Kristalle vom Schmp. 226–228°C (Zers.) (Lit.¹² Schmp. 227–229°C (Zers.)).

b) 0.5 g (2.6 mmol) **8** werden in 75 ml Acetanhydrid 3 h unter Rückfluß erhitzt. Man engt zur Trockne ein und kristallisiert den Rückstand aus 25 ml Wasser mit Aktivkohle um, wobei 0.5 g (70%) farblose Kristalle vom Schmp. 226–229°C anfallen.

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.10 (s; 3H, CH₃), 2.20 (s; 3H, CH₃), 5.27 (s; 2H, CH₂), 8.94 (s; 1H, 7-H). – MS (70 eV): *m/e* = 277 (M⁺, 4%), 235 (100%).

6-(Acetoxyethyl)pterin (**10**): a) Aus vorstehender Säulenchromatographie wird nach einer Mischfraktion gegen Ende der Elution reines **10** erhalten, das nach Einengen und Umkristallisation aus Wasser 28 mg (13%) farblose Kristalle vom Schmp. ab 300°C (Zers.) ergibt.

b) 0.45 g (1.6 mmol) **9** werden in 16 ml Wasser 7.5 h unter Rückfluß erhitzt. Aus der anfänglich klaren Lösung scheidet sich allmählich ein Niederschlag ab, welcher nach Ende der Reaktion und Abkühlen gesammelt wird (0.25 g). Man kristallisiert aus Eisessig mit Aktivkohle um und reinigt das so erhaltene Produkt durch Kieselgel-Chromatographie mit Chloroform/Methanol (4:1), wobei aus der Hauptfraktion nach Umkristallisation aus Wasser 30 mg (8%) farblose Kristalle vom Schmp. ab 300°C (Zers.) erhalten werden.

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.08 (s; 3H, CH₃), 5.16 (s; 2H, CH₂), 6.94 (s; 2H, NH₂), 8.70 (s; 1H, 7-H). – MS (70 eV): *m/e* = 235 (M⁺).

C₉H₉N₅O₃ (235.2) Ber. C 45.96 H 3.86 N 29.43 Gef. C 45.97 H 3.56 N 29.43

*2,4-Diamino-6-[(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)methyl]pteridin* (**13**): 0.4 g (1.75 mmol) **3** · HCl werden in 12 ml Hexamethyldisilazan in Gegenwart weniger Kristalle Ammoniumsulfat 24 h unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Man zieht das überschüssige Silylierungsmittel i. Vak. ab, löst das verbleibende braune Öl in 50 ml trockenem Ethylacetat, welches 2.65 g (5.25 mmol) 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranose (**12**) enthält. Nach Zugabe

von 1.5 ml BF_3 -Etherat wird 1 d im geschlossenen Gefäß bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird zweimal mit 50 ml 0.5 N NaHCO_3 und einmal mit Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und dann zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird auf eine Kieselgelsäule (360 g) gegeben und mit Chloroform/Methanol (93:7) entwickelt. Die Hauptfraktion wird eingengt und der Rückstand aus Benzol/Ethylacetat umkristallisiert. Ausb. 0.8 g (72%) gelbe Kristalle vom Schmp. 170–200 °C (Zers.), Sintern ab 125 °C.

$\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_8$ (636.6) Ber. C 62.26 H 4.43 N 13.20 Gef. C 62.35 H 4.40 N 13.20

2,4-Diamino-6-[(β -D-ribofuranosyloxy)methyl]pteridin (**14**): 0.52 g (0.82 mmol) **13** werden in 25 ml Methanol und 5 ml Dioxan gelöst und dann mit 10 ml 0.09 N CH_3ONa versetzt. Nach 15 h Rühren im geschlossenen Gefäß wird eingengt, der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst und durch Zugabe von wenigen Tropfen Essigsäure neutralisiert. Durch vorsichtiges Einengen der Lösung auf ca. 5 ml erhält man 0.25 g (94%) eines chromatographisch reinen Produktes, das sich nach Umkristallisieren aus wäßrigem Methanol in Form der gelblichen Kristalle bei 170 °C zersetzt.

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_5$ (324.3) Ber. C 44.44 H 4.97 N 25.91 Gef. C 44.35 H 4.98 N 26.04

2,4-Diamino-6-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyloxy)methyl]pteridin (**16**): 1.0 g (4.4 mmol) **3** · HCl wird in 30 ml Hexamethyldisilazan unter der Katalyse weniger Kristalle Ammoniumsulfat 24 h unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Das überschüssige Silylierungsmittel wird i. Vak. abdestilliert und der braune verbleibende Sirup in 60 ml wasserfreiem Benzol gelöst. Man gibt anschließend 5.1 g (13 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-glucose (**15**) zu und versetzt nach Auflösen mit 3 ml BF_3 -Etherat. Es wird dann bei Raumtemp. 60 h im geschlossenen Gefäß gerührt, wobei sich ein brauner Niederschlag abscheidet. Nach beendeter Reaktion wird abfiltriert, der Rückstand mit Benzol gewaschen und dabei nicht umgesetztes **15** entfernt. Der Rückstand wird daraufhin mit insgesamt 100 ml Chloroform/Methanol (9:1) in mehreren Portionen extrahiert, wobei 0.43 g gelbliches unlösliches Material und eine braune Lösung erhalten werden. Letztere wird eingengt und über eine Kieselgelsäule mit einem Gradienten von 5–20proz. Methanol in Chloroform (2:1) chromatographiert. Die Hauptfraktion wird gesammelt und liefert nach Einengen 0.3 g (13%) gelbes Kristallpulver vom Schmp. 189–190 °C.

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_{10}$ (522.5) Ber. C 62.26 H 4.43 N 13.20 Gef. C 62.35 H 4.40 N 13.20

2,4-Diamino-6-[(β -D-glucopyranosyloxy)methyl]pteridin (**17**): 0.6 g (1.1 mmol) **16** werden in einem Gemisch aus 40 ml Methanol und 14 ml Dioxan gelöst und mit 26 ml 0.165 M CH_3ONa versetzt. Man rührt 24 h bei Raumtemp., sammelt den abgeschiedenen Niederschlag (0.29 g) und erhält nach Umkristallisation aus Methanol 0.22 g (75%) gelbliche Kristalle vom Schmp. ab 250 °C (Zers.).

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_6$ (354.3) Ber. C 44.07 H 5.12 N 23.72 Gef. C 43.78 H 5.10 N 23.73

Literatur

- 1) LXVIII, Mitteil.: W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **112**, 2750 (1979).
- 2) J. R. Piper und J. A. Montgomery, J. Heterocycl. Chem. **11**, 279 (1974).
- 3) J. R. Piper und J. A. Montgomery, J. Org. Chem. **42**, 208 (1977).
- 4) D. J. Brown und B. T. England, J. Chem. Soc. **1965**, 1530.
- 5) C. M. Baugh und E. Shaw, J. Org. Chem. **29**, 3610 (1964).
- 6) USA Dept. of Health, Education and Welfare (Erf. J. A. Ellard), US-Pat. 4080325 (31. 3. 78).
- 7) J. C. Speck, Adv. Carbohydr. Chem. **13**, 73 (1958).

- 8) *R. B. Angier, C. W. Waller, J. H. Boothe, J. H. Mowat, J. Semb, B. L. Hutchings, E. L. R. Stokstad and Y. SubbaRow*, *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 3029 (1948).
- 9) *G. Konrad und W. Pfeleiderer*, *Chem. Ber.* **103**, 722 (1970).
- 10) *N. Nakazaki, T. Yoshino und Y. Ishido*, 1st. Symposium on Nucleic Acid Chemistry (Japan), S. 14 (1974); *N. Nakazaki, N. Sakairi und Y. Ishido*, 2nd. Symposium on Nucleic Acid Chemistry (Japan), S. 9 (1975); *N. Nakazaki, M. Sekiya, T. Yoshino und Y. Ishido*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **46**, 3858 (1973).
- 11) *P. Karrer und R. Schwyzer*, *Helv. Chim. Acta* **32**, 423 (1949).
- 12) *C. W. Waller, A. A. Goldman, R. B. Angier, J. H. Boothe, B. L. Hutchings, J. H. Mowat und J. Semb*, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4630 (1950).
- 13) *R. B. Angier und W. V. Curran*, *J. Org. Chem.* **26**, 2129 (1961).
- 14) *D. L. Hatfield, C. van Baalen und H. S. Forrest*, *Plant Physiol.* **36**, 240 (1961); *H. S. Forrest, C. van Baalen und J. Myers*, *Arch. Biochem. Biophys.* **78**, 95 (1958).
- 15) *Y. Kaneko und M. Sanada*, *J. Ferment. Technol.* **47**, 8 (1969).
- 16) *K. Ienaga und W. Pfeleiderer*, *Chem. Ber.* **111**, 2568 (1978).
- 17) *L. D. Hall*, *Adv. Carbohydr. Chem.* **19**, 51 (1964).
- 18) *G. Zemplén, A. Gerecs und I. Hadacsy*, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **69**, 1827 (1936).
- 19) *A. Albert und E. P. Serjeant*, *The Determination of Ionization Constants*, S. 44, Chapman and Hall Ltd., London 1971.

[258/79]