

Anwendungen der  $^{13}\text{C}$ -Resonanz-Spektroskopie, XXV<sup>1)</sup>Pteridin-Spektren, IV<sup>1a)</sup>Stefan Tobias<sup>a</sup>, Harald Günther<sup>\*a</sup> und Wolfgang Pfeleiderer<sup>b</sup>

Fachbereich 8, OC II, Universität GH Siegen<sup>a</sup>, Postfach 101240, D-5900 Siegen, und  
 Fakultät für Chemie der Universität Konstanz<sup>b</sup>, Postfach 5560, D-7750 Konstanz

Eingegangen am 9. Januar 1984

Für Pterin (1) und Isopterin (2) sowie die betreffenden 6- und 7-Mono- und Dimethyl- und einige *N*-Methylderivate (3–11) wurden die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Parameter in verschiedenen Lösungsmitteln in basischem (NaOH, KOH), neutralem (DMSO) und saurem (TFA,  $\text{FSO}_3\text{H}$ ) Medium bestimmt. Aus den gemessenen Änderungen der  $\delta(^{13}\text{C})$ -Werte und der  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten wurden die Strukturen der Anionen sowie der Mono- und Dikationen abgeleitet. Erstprotonierung in TFA erfolgt bei den Pterinen an N-1, bei den Isopterinen an N-3. Zweitprotonierung in  $\text{FSO}_3\text{H}$  findet man bei den Pterinen an N-5, bei den Isopterinen an N-8.

Applications of  $^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopy, XXV<sup>1)</sup>Pteridin Spectra, IV<sup>1a)</sup>

$^{13}\text{C}$  NMR parameters have been determined for pterine (1) and isopterine (2) as well as the corresponding 6- and 7-mono- and dimethyl and some *N*-methyl derivatives (3–11) in different solvents under basic (NaOH, KOH), neutral (DMSO), and acidic (TFA,  $\text{FSO}_3\text{H}$ ) conditions. The structures of the anions and the mono- and dications were derived from the changes measured for the  $\delta(^{13}\text{C})$  values and the  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$  coupling constants. The first protonation occurs in TFA for pterines at N-1 and for isopterines at N-3. The second protonation in  $\text{FSO}_3\text{H}$  is observed at N-5 in the case of pterines and at N-8 in the case of isopterines.

Bei  $^{13}\text{C}$ -NMR-Messungen an Pterin (1)<sup>1a)</sup> waren wir auf Protonierungseffekte für die  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten gestoßen, die sich mittlerweile als wertvolle Indikatoren für die Untersuchung von Protonierungssequenzen und Tautomerieproblemen bei Stickstoff-Heterocyclen erwiesen haben<sup>2,3)</sup> (Abb. 1). So kann bei Pteridinen insbeson-

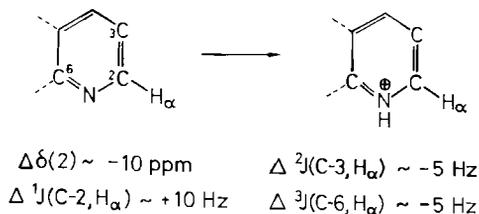
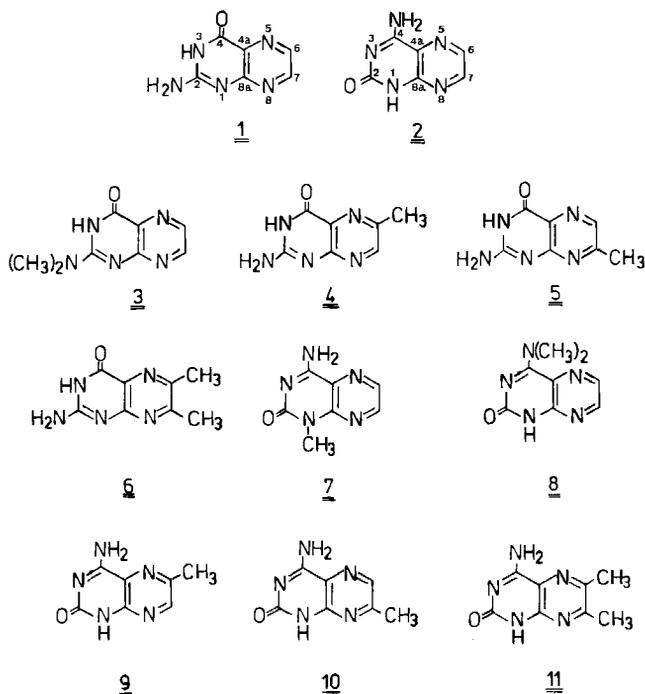


Abb. 1. Änderungen der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Parameter aromatischer Heterocyclen bei Stickstoff-Protonierung

dere die Frage, ob die im Pyrazinring stattfindende Zweitprotonierung an N-5 oder N-8 erfolgt, mit Hilfe der  $^{\text{N}}J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ -Daten geklärt werden, da nur die vicinale  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -Kopplung über den protonierten Stickstoff – also  $^3J(4\text{a}, 6)$  oder  $^3J(8\text{a}, 7)$  – und die geminale  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -Kopplung des zum protonierten Stickstoff  $\beta$ -ständigen C-Atoms – also  $^2J(7, 6)$  oder  $^2J(6, 7)$  – signifikant verkleinert werden. Hinzu kommt, daß die  $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ -Werte in protonierten Heterocyclen stark ansteigen. Dies kann bei polycyclischen Verbindungen als Hinweis darauf dienen, in welchem Ring die Protonierung stattfindet. Ergänzt werden diese Beobachtungen in der Regel durch die bekannten Änderungen der Resonanzfrequenzen, von denen insbesondere die Hochfeldverschiebung der Signale von Kohlenstoffen, die dem protonierten Stickstoff benachbart sind, charakteristisch ist<sup>4)</sup>.

Da nach dem früheren Stand der Meßtechnik die  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -Kopplungsparameter für **1** nur näherungsweise bestimmt werden konnten<sup>14, 5)</sup>, war im Hinblick auf den Referenzcharakter dieser Daten eine genauere Untersuchung bei höherer spektraler Auflösung wünschenswert.



Darüber hinaus stand mit Isopterin (**2**)<sup>6)</sup> eine interessante Verbindung zur Verfügung, für die wir erwarteten, daß die im Vergleich zu **1** unterschiedliche Stellung der funktionellen Gruppen im Pyrimidinteil nicht ohne Einfluß auf die Protonierungssequenz sein sollte. Wir berichten daher über  $^{13}\text{C}$ -NMR-Messungen an **1** und **2** sowie einer Reihe methylsubstituierter Derivate beider Verbindungen (**3** – **11**), die für die eindeutige Zuordnung der  $^{13}\text{C}$ -Daten und die Bestätigung der bei den Stammsystemen ge-

fundenen Protonierungssequenzen in Trifluoressigsäure (TFA) und Fluorsulfonsäure (FSO<sub>3</sub>H) von Bedeutung waren.

## Ergebnisse

*Pterine*: Die  $\delta(^{13}\text{C})$ -Werte für **1** wurden bereits publiziert<sup>14,5)</sup> und durch die neuen Messungen bestätigt. Das früher nicht gemessene Signal von C-4 in TFA wird bei 157.8 ppm registriert. Die Daten der Methylderivate **3–6** zeigt Tab. 1, ebenso die <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-Kopplungskonstanten aller untersuchten Pterine.

Eine Diskussion der Protonierungseffekte ist nur auf der Basis einer gesicherten Zuordnung der <sup>13</sup>C-Resonanzen möglich. Dazu dienten neben den teilweise charakteristischen Resonanzbereichen die unterschiedlichen Signalmultiplizitäten im <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-gekoppelten Spektrum, die eine Differenzierung von drei Signalpaaren erlauben. So sind die Resonanzen von C-6 und -7 durch <sup>1</sup>J- und <sup>2</sup>J-Kopplung (Dublett von Dubletts) und diejenigen von C-8a und -4a durch <sup>3</sup>J-Kopplung (Dublett) aufgespalten, während C-2 und -4 als quartäre Kohlenstoffatome keine Aufspaltungen zeigen.

Für die Unterscheidung innerhalb eines Paares dienen bei den einzelnen Verbindungen verschiedene Kriterien, die wir im folgenden Abschnitt anführen. Allen Pteridinen gemeinsam ist jedoch die hohe Ladungsdichte an C-4a, dessen Resonanz daher stets am stärksten abgeschirmt ist;  $\delta(8a) > \delta(4a)$  gilt deshalb für alle Verbindungen und in allen Lösungsmitteln.

Bei **3** führt die <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-Kopplung zwischen den Protonen der N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Gruppe und C-2 zur Linienverbreiterung und erlaubt daher eine Unterscheidung von  $\delta(2)$  und  $\delta(4)$ . Für  $\delta(6)$  und  $\delta(7)$  kann die Zuordnung in Analogie zu den Methylderivaten **4** und **5** getroffen werden, bei denen der Wegfall der <sup>1</sup>J(<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H)-Kopplung am methylierten Kohlenstoff eine sichere Unterscheidung dieser Resonanzen ermöglicht. Die Resonanz von C-8a in **4** und C-4a in **5** erkennt man an ihrer <sup>3</sup>J(<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H)-Kopplung, die von C-4a in **4** an ihrer charakteristischen Lage bei höchstem Feld. Bei **5** fällt die <sup>3</sup>J(<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H)-Kopplung zwischen C-8a und 7-H weg, so daß  $\delta(8a)$  sowie  $\delta(2)$  und  $\delta(4)$  nur in Analogie zu den Ergebnissen von **3** und **4** zugeordnet werden können. Ebenso basiert die Zuordnung für **6** auf dem Vergleich mit **4** und **5**.

*Isopterine*: Auch für Isopterin (**2**) stand mit dem 1- und 7-Methylderivat (**7**, **10**) sowie mit der *N,N*-Dimethylverbindung **8** ein für die Zuordnung aller <sup>13</sup>C-Resonanzen hinreichender Satz von Modellverbindungen zur Verfügung. Bei **7** kann nach Ergebnissen für 7- und 9-Methylpurin<sup>7)</sup> ein Methylgruppeneffekt auf die  $\delta(^{13}\text{C})$ -Werte vernachlässigt werden. In 5 *N* KOH können wir im <sup>1</sup>H-gekoppelten Spektrum von **2** zunächst aufgrund der oben erwähnten Kriterien drei Signalpaare für die C-Atome 2 und 4, 8a und 4a sowie 6 und 7 unterscheiden. Für C-8a und -4a gilt auch hier aufgrund der Ladungsdichte  $\delta(8a) > \delta(4a)$ . Die Zuordnung innerhalb der anderen beiden Signalpaare konnte mit Hilfe der methylsubstituierten Derivate gesichert werden. Auf Details der Zuordnung gehen wir im folgenden Abschnitt ein. Die Daten der Isopterine sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

## Diskussion

*Pterine*: Mit dem *N,N*-Dimethylderivat **3** stand uns jetzt ein Pterinderivat zur Verfügung, das aufgrund seiner Löslichkeit in DMSO erstmals eine Bestimmung aller <sup>13</sup>C-

NMR-Parameter für das Neutramolekül erlaubt, nachdem bisher nur berechnete Werte zur Verfügung standen, die aus den Daten der Folsäure und dem Vergleich  $1^-$ /Folsäure-Anion abgeleitet worden waren<sup>1a)</sup>. Die jetzt ermittelten Werte (Tab. 1) stimmen mit den Ergebnissen der früheren Inkrementrechnungen gut überein und bestätigen die seinerzeit für **1** getroffenen Schlußfolgerungen.

Tab. 1.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von Pterin (**1**)<sup>a)</sup> und seinen Methylderivaten **3**–**6** in verschiedenen Medien,  $\delta(^{13}\text{C})$ -Werte in ppm, bez. auf TMS, kursiv gedruckte Werte können vertauscht werden;  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten in Hz

A) Chemische Verschiebungen									
	Solvens	Konz. (M)	C-2	C-4	C-6	C-7	C-8a	C-4a	CH <sub>3</sub>
<b>3</b>	[D <sub>6</sub> ]DMSO	0.1	152.6	161.8	139.0	149.6	156.3	128.6	37.5
	TFA	0.4	150.6	159.4	142.7	148.5	148.3	128.4	39.5, 39.7
	FSO <sub>3</sub> H	0.5	148.1	152.9	136.0	158.7	150.3	115.4	40.9, 41.1
<b>4</b>	TFA	0.6	151.8	158.9	155.8	152.2	145.4	125.0	19.2
	FSO <sub>3</sub> H	0.5	151.8	153.1	153.1	160.6	147.7	115.0	18.5
<b>5</b>	TFA	0.8	152.1	158.9	144.3	165.4	147.1	123.5	20.8
	FSO <sub>3</sub> H	1.3	151.9	152.7	137.2	172.9	149.0	113.7	24.0
<b>6</b>	TFA	0.4	151.8	158.7	154.8	165.3	145.6	121.7	19.5, 21.3
	CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H	ca. 0.5	151.9	152.3	152.7	152.7	146.2	113.0	18.4, 23.2
B) Kopplungskonstanten <sup>b)</sup>									
	Solvens	Konz. (M)	$^1J(6,6)$	$^1J(7,7)$	$^2J(6,7)$	$^2J(7,6)$	$^3J(8a,7)$	$^3J(4a,6)$	exp. Fehler
<b>1</b>	1 N NaOH	0.25	187.3	182.8	10.0	11.5	11.0	10.0	± 0.24
	CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> D	0.81	194.0	192.0	10.6	11.5	13.0	11.4	± 0.33
	FSO <sub>3</sub> D	0.8	205.9	205.9	12.9	6.9	13.9	6.3	± 0.33
<b>3</b>	[D <sub>6</sub> ]DMSO		186.0	181.8	10.5	12.0	12.2	10.5	± 0.24
	TFA/H <sub>2</sub> O (3:1)		194.0	191.8	9.6	12.6	11.2	10.5	± 0.33
	FSO <sub>3</sub> H		205.0	205.4	12.7	7.0	13.8	6.4 <sup>c)</sup>	± 0.33
<b>4</b>	TFA <sup>d)</sup>		–	189.1	10.0	–	12.6	–	± 0.33
	FSO <sub>3</sub> H <sup>e)</sup>		–	203.0	12.7	–	13.6	–	± 0.33
<b>5</b>	TFA		191.8	–	–	8.2	–	10.8	± 0.6
	FSO <sub>3</sub> H <sup>g)</sup>		202.1	–	–	± 1.2 <sup>d)</sup> 6.4	–	6.8	± 0.6

<sup>a)</sup> Chemische Verschiebungen von **1** vgl. Lit.<sup>1a)</sup>. – <sup>b)</sup> Konzentrationen bei **3**–**5** wie bei A). – <sup>c)</sup> Fernkopplung  $^4J(4a,7) = 1.4$  Hz. – <sup>d)</sup> Fernkopplung  $^4J(8a,6) = 2.1$  Hz; Kopplungen zu den Methylprotonen  $^2J(6,CH_3) > ^3J(7,CH_3)$ ;  $^2J(6,CH_3) = 6.4$  Hz. – <sup>e)</sup>  $^2J(6,CH_3) = 7$ ,  $^3J(7,CH_3) = 3$  Hz. – <sup>f)</sup> Unter  $CH_3$ -Entkopplung. – <sup>g)</sup>  $^2J(7,CH_3) = 6.4$ ,  $^3J(6,CH_3) = 3.9$  Hz.

Beim Übergang von DMSO zu TFA beobachten wir für **3** Hochfeldverschiebungen abnehmender Stärke für die C-Atome 8a, 4 und 2 (8.0, 2.4 bzw. 2.0 ppm). Protonierung erfolgt danach im Pyrimidinteil und hier zweifellos an N-1, da  $\Delta\delta(8a)$  deutlich überwiegt. Wichtig ist ferner die Aufspaltung der N-Methylresonanzen in zwei Signale, die eine drastische Erhöhung der Energiebarriere für die Drehung um die C-2–N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Bindung anzeigt, wie es für das protonierte Amidinfragment erwartet wird. In Analogie dazu war früher bei Pterin eine Aufspaltung der NH<sub>2</sub>-Resonanz im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum beobachtet worden<sup>8)</sup>.

Im Pyrazinring von **3** beobachtet man eine schwache, aber durchaus deutliche Abnahme der Kopplungskonstanten  ${}^2J(6,7)$  und  ${}^3J(8a,7)$ , verbunden mit einer relativ starken Zunahme der  ${}^1J$ -Daten. Dies läßt sich am besten mit der früher UV-spektroskopisch gefundenen partiellen N-8-Protonierung von **3** bei pH  $-0.89^9)$  erklären. Da, wie unten gezeigt wird, das zweite Proton im Dikation an N-5 eintritt, muß unter den Meßbedingungen die Mischung zweier an N-1 bzw. N-8-protonierter Monokationen vorliegen. Aus der Größe der Kopplungskonstanten-Änderungen von ca. 1 Hz läßt sich im Hinblick auf die bei N-5-Protonierung von **1** oder – wie unten erläutert wird – N-8-Protonierung von **2** und **8** beobachteten Änderungen von ca. 5 Hz ein Anteil von ca. 20% an N-8-protonierter Form abschätzen. Das liefert für N-8 und N-1 eine  $pK_a$ -Wert-Differenz von  $-0.6$ .

Im acideren Medium  $FSO_3H$  kommt es zur Bildung des Dikations. Hier wird die beobachtete Änderung der  ${}^{13}C$ -Daten mit Hochfeldverschiebungen für C-6 (6.7 ppm) und C-4a (13.0 ppm) spezifischer. Auch C-2 und C-4 werden weiter abgeschirmt, während die Resonanzen von C-7 und C-8a nach tiefem Feld wandern. Erneut steigen die  ${}^1J$ -Werte stark an, zusätzlich wird aber jetzt die für N-5-Protonierung charakteristische Abnahme der geminalen Kopplung  ${}^2J(7,6)$  ( $-5.6$  Hz) und der vicinalen Kopplung  ${}^3J(4a,6)$  ( $-4.1$  Hz) gefunden. Die entsprechenden Daten in der Umgebung von N-8 nehmen dagegen zu, wobei der relativ starke Anstieg von  ${}^2J(6,7)$  und  ${}^3J(8a,7)$  (3.1 bzw. 3.0 Hz) den Schluß erlaubt, daß die in TFA beobachtete partielle N-8-Protonierung in  $FSO_3H$  nicht mehr auftritt. Dafür spricht auch, daß  $\delta(7)$  und  $\delta(8a)$  in **1** und **3** gut übereinstimmen. Alle hier gemachten Beobachtungen deuten somit auf Zweitprotonierung an N-5 und sind mit den für **1** erzielten Resultaten<sup>1a)</sup> im Einklang.

Die genaueren Messungen für **1** liefern nun für N-5-Protonierung (Übergang von TFA zu  $FSO_3D$ ) folgende Änderung der  ${}^{13}C, {}^1H$ -Kopplungskonstanten:  ${}^2J(7,6)$  und  ${}^3J(4a,6)$  nehmen um 4.6 bzw. 5.1 Hz ab, während  ${}^2J(6,7)$  und  ${}^3J(8a,7)$  um 2.3 bzw. 0.9 Hz zunehmen. Beide Aspekte, die durch die Befunde für **3** bestätigt werden, sind von Bedeutung, da bei 6- oder 7-monosubstituierten Derivaten nur einer der beiden Datensätze gemessen werden kann, wie das unten für **4** und **5** diskutiert wird.

Für die  ${}^1J$ -Werte finden wir beim Übergang vom Anion oder Neutralkemolkül zum Monokation und zum Dikation eine stetige Zunahme, wobei bis zum Monokation immer  ${}^1J(6,6) > {}^1J(7,7)$  gilt. Dieser Befund kann gegebenenfalls für Signalzuordnungen wichtig sein. Erst in  $FSO_3H$  stimmen beide Parameter praktisch überein. Für die chemischen Verschiebungen gilt ferner für **1** und **3** in allen Medien  $\delta(6) < \delta(7)$ , wie es der höheren Ladungsdichte an C-6<sup>10)</sup> entspricht.

Bei den Methylderivaten **4** und **5** wurde nur die Zweitprotonierung (Wechsel TFA/ $FSO_3H$ ) verfolgt; **4** zeigt eine starke Abschirmung für C-4a ( $\Delta\delta -10$  ppm) und für C-6 ebenfalls Hochfeldverschiebung ( $\Delta\delta -2.7$  ppm). Auch C-4 wird relativ stark, nämlich um 5.8 ppm, abgeschirmt. Danach muß wie beim Stammsystem N-5 protoniert sein. Dies wird durch den Anstieg der geminalen und der vicinalen  ${}^{13}C, {}^1H$ -Kopplung  ${}^2J(6,7)$  bzw.  ${}^3J(8a,7)$ , die hier als Meßgrößen zur Verfügung stehen, bestätigt (vgl. oben). Damit gleicht **4** in seinem Verhalten der Stammverbindung **1**, während wir für Folsäure nach N-1- und Seitenkettenprotonierung an N- $\beta$  in  $10N$   $H_2SO_4$  beim Übergang zu  $FSO_3H$  N-8-Protonierung gefunden hatten<sup>2)</sup>. Die C-6-Methylgruppe besitzt somit nicht den gleichen Einfluß auf die Protonierung am Pyrazinring des Pterins wie der proto-

nierte *N*-(*p*-Aminobenzoyl)glutaminsäure-Rest der Folsäure, bei dem möglicherweise elektrostatische Ladungsabstoßung eine Rolle spielt (vgl. unten).

Beim 7-Methylderivat **5** finden wir ebenfalls die für N-5-Protonierung in  $\text{FSO}_3\text{H}$  typischen Änderungen der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Parameter: Abschirmung für C-6 ( $\Delta\delta -7.1$  ppm) und C-4a ( $\Delta\delta -9.8$  ppm) sowie eine Verkleinerung der Kopplungskonstanten  $^2J(7,6)$  und  $^3J(4a,6)$ . Auch C-4 erfährt wiederum Abschirmung. Schließlich liefert die Messung für das Dimethylderivat **6** in TFA  $\delta$ -Werte, die mit den Daten für **4** und **5** in diesem Solvens ausgezeichnet übereinstimmen, so daß auch hier N-1-Protonierung angenommen werden kann. Da sich **6** in  $\text{FSO}_3\text{H}$  zersetzt, wurde die Zweitprotonierung in Trifluormethansulfonsäure ( $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ ) untersucht. Die erhaltenen Daten entsprechen wiederum den Werten der Monomethyl-Verbindungen, d. h. im Dikation von **6** ist neben N-1 ebenfalls N-5 protoniert. Interessant ist, daß die mit der N-5-Protonierung verbundenen Hochfeldverschiebungen für die Resonanz von C-6 in **4** und **6**, in denen dieser Kohlenstoff methylsubstituiert ist, relativ gering ausfallen (2.7 bzw. 2.1 ppm).

*Isopterine*: In der Reihe **2**, **7**–**10** kann der Übergang vom Anion zum Neutalmolekül mit Hilfe des *N,N*-Dimethylderivats **8** als Modell diskutiert werden. Beim Wechsel **2** (KOH)/**8** (DMSO) finden wir starke Hochfeldverschiebungen für C-2, -4 und -8a. Die Addition eines Protons an N-1 beeinflußt also im wesentlichen die Resonanzen im Pyrimidinteil des Moleküls. Dementsprechend stimmen die  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten, die praktisch nur über die Bindungen im Pyrazinring vermittelt werden, für beide Messungen nahezu überein.

Der Übergang von DMSO zu TFA hat bei **8** größere Hochfeldverschiebungen nur für C-2 (4.8 ppm) und C-4 (6.2 ppm) zur Folge. Danach kann man auf Protonierung an N-3 schließen. Für die Absicherung dieser Protonierungseffekte ist das 1-Methylderivat **7** wichtig, da hier aufgrund der vicinalen  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung zwischen C-2 und den Methylprotonen, die sich im Spektrum in einer Linienverbreiterung dokumentiert, eine eindeutige Unterscheidung von  $\delta(2)$  und  $\delta(4)$  möglich ist. Wie Tab. 2 zeigt, stimmen die Daten für alle drei Systeme **2**, **7** und **8** in TFA gut überein, wobei die Dimethylsubstitution für C-4 in **8** eine Abschirmung von ca. 4 ppm bewirkt; C-4a dagegen wird um den gleichen Betrag entschirmt.

Bei den Kopplungskonstanten führt Protonierung im Pyrimidinteil jetzt ebenfalls, wie bei Pterin, zu einer Vergrößerung der  $^1J$ -Daten im Pyrazinteil des Moleküls. Da die anderen Konstanten mehrheitlich leicht ansteigen, liegen hier keine Anzeichen für partielle N-5- oder N-8-Protonierung vor. Der Anstieg der  $^1J$ -Werte ist bei **1**, **2** und **8** betragsmäßig geringer als beim *N,N*-Dimethylpterin **3**, was im Verein mit dem Verhalten der Fernkopplungen unterstreicht, daß partielle N-8-Protonierung nur bei **3** auftritt.

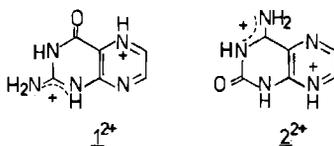
Für die Zweitprotonierung beim Übergang von TFA zu  $\text{FSO}_3\text{H}$  finden wir sodann in allen Systemen starke Abschirmung für C-7 und C-8a. Danach muß im Dikation neben N-3 die Position N-8 protoniert sein. Dies wird durch die  $J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ -Daten bestätigt, die für **2** und **8** neben dem Anstieg der  $^1J$ -Werte Abnahmen für  $^2J(6,7)$  ( $-5.5$ ,  $-4.7$  Hz) und  $^3J(8a,7)$  ( $-5.3$ ,  $-3.7$  Hz) zeigen, während  $^2J(7,6)$  und  $^3J(4a,6)$  zunehmen. Genau das gegenteilige Verhalten war für **1** und **3** gefunden worden. Die Dikationen von **1** und **2** haben danach die Strukturen  $1^{2+}$  und  $2^{2+}$ , die vermutlich den Effekten der elektrostatischen Ladungsabstoßung am besten gerecht werden. Die für den Übergang Anion –

Tab. 2.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von Isopterin (**2**) und seinen Methylderivaten **7–10** in verschiedenen Medien,  $\delta$  ( $^{13}\text{C}$ )-Werte in ppm, bez. auf TMS, kursiv gedruckte Werte können vertauscht werden;  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten in Hz

A) Chemische Verschiebungen									
	Solvens	Konz. (M)	C-2	C-4	C-6	C-7	C-8a	C-4a	$\text{CH}_3$
<b>2</b>	5 N KOH	–	164.1	168.4	137.4	150.2	156.7	122.9	–
	$\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$	0.57	147.5	158.8	143.6	152.5	147.4	120.8	–
	$\text{FSO}_3\text{D}$	0.81	142.8	155.8	144.8	140.4	139.8	127.8	–
<b>7</b>	TFA	1	148.2	157.4	142.0	152.5	147.9	120.1	28.2
<b>8</b>	$[\text{D}_6]\text{DMSO}$	0.1	154.3	160.0	136.9	146.9	150.1	124.7	41.1
	TFA	0.4	149.5	153.8	142.0	148.4	147.7	124.6	44.1, 45.9
	$\text{FSO}_3\text{H}$	0.5	145.1	150.8	143.7	137.4	140.6	131.3	46.1, 48.1
<b>9</b>	TFA	ca. 0.3	147.8	158.6	155.6	153.2	145.4	119.3	20.7
	$\text{FSO}_3\text{H}$	ca. 0.5	144.2	156.0	158.1	140.8	137.4	126.2	21.3
<b>10</b>	TFA	0.3	147.9	158.6	144.5	166.7	147.1	117.7	19.7
	10 N $\text{H}_2\text{SO}_4$	–	147.9	159.2	145.1	166.3	149.0	119.3	–
	$\text{FSO}_3\text{H}$	ca. 0.5	144.8	156.6	146.8	158.8	139.8	123.8	19.5
<b>11</b>	TFA	0.7	148.0	158.7	155.0	166.1	145.4	116.7	20.2, 21.1
	$\text{FSO}_3\text{H}$	0.7	145.0	156.2	158.6	159.2	137.7	121.9	20.4, 21.1
B) Kopplungskonstanten									
	Solvens <sup>a)</sup>		$^1J(6,6)$	$^1J(7,7)$	$^2J(6,7)$	$^2J(7,6)$	$^3J(8a,7)$	$^3J(4a,6)$	exp. Fehler
<b>2</b>	5 N KOH		187.3	183.0	11.6	12.2	11.0	9.8	$\pm 0.61$
	$\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$ <sup>b)</sup>		195.0	190.4	10.6	12.2	11.9	11.2	$\pm 0.33$
	$\text{FSO}_3\text{D}$		208.0	202.9	5.1	13.9	6.6	12.5	$\pm 0.24$
<b>7</b>	TFA		193.7	190.3	10.7	11.6	10.4	– <sup>d)</sup>	$\pm 0.61$
<b>8</b>	$[\text{D}_6]\text{DMSO}$ <sup>c)</sup>		188.2	184.6	10.8	11.7	10.9	10.5	$\pm 0.33$
	TFA		195.0	190.7	10.1	12.2	11.0	11.3	$\pm 0.31$
	$\text{FSO}_3\text{H}$		207.9	202.9	5.4	13.7	7.3	12.3	$\pm 0.33$
<b>9</b>	TFA	–	–	188.2	9.5	–	12.0	–	$\pm 0.3$
	$\text{FSO}_3\text{H}$	–	–	200.3	5.5	–	7.8	–	$\pm 0.3$
<b>10</b>	TFA		192.2	–	–	11.4	–	11.3	$\pm 0.3$
	$\text{FSO}_3\text{H}$		206.5	–	–	13.7	–	12.1	$\pm 0.3$

a) Konzentration wie bei A). – b) Fernkopplungen  $^4J(8a,6) = 1.0$ ;  $^4J(4a,7) = 1.3$  Hz. – c) Fernkopplungen  $^4J(8a,6) = 1.0$ ;  $^4J(4a,7) = 1.5$  Hz. – d) Wegen Überlagerung mit TFA-Signal nicht aufgelöst.

Neutramolekül – Kation – Dikation charakteristischen Änderungen der chemischen  $^{13}\text{C}$ -Verschiebungen im Isopterinsystem sind in Abb. 2 zusammengefaßt<sup>11)</sup>.



Bei den Methylderivaten **9–11** wurde nur die Zweitprotonierung untersucht. In allen Fällen findet man beim Wechsel TFA/ $\text{FSO}_3\text{H}$  starke Abschirmung für C-7 und C-8a sowie bei **9** Abnahmen für die Kopplungskonstanten  $^2J(6,7)$  und  $^3J(8a,7)$  und eine Zunahme der  $^1J$ -Kopplung. Letzteres gilt auch für **10**, dessen Fernkopplungen andererseits

erwartungsgemäß ansteigen. Diese Befunde sind mit der Zweitprotonierung an N-8 in Einklang. Nach den Daten in  $10\text{N H}_2\text{SO}_4$  liegt **10** in diesem Medium wie in TFA vorwiegend als N-3-protoniertes Monokation vor.

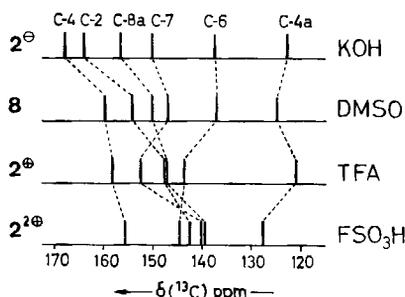


Abb. 2. Chemische Verschiebungen der  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen in Isopterin (**2**) und seinen Ionen mit **8** als Modell für das Neutrale Molekül

Abschließend läßt sich feststellen, daß die Protonierungssequenzen in der untersuchten Pterin- und Isopterinreihe auf der Basis der  $\delta(^{13}\text{C})$ -Werte und der  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten zuverlässig bestimmt werden konnten. Die gefundenen relativ großen Änderungen dieser Parameter lassen den Schluß zu, daß die jeweilig diskutierten Strukturen der Mono- und Dikationen dominieren und alternative Spezies gar nicht oder bestenfalls in sehr geringer Konzentration ( $< 5\%$ ) vorliegen. In dieser Hinsicht wären entsprechende  $^{15}\text{N}$ -NMR-Messungen von Interesse, da die Änderungen der  $^{15}\text{N}$ -Resonanz bei Protonierung diejenigen der  $^{13}\text{C}$ -Resonanz um eine Größenordnung übertreffen<sup>12)</sup>. Da  $^{15}\text{N}$ -NMR-Messungen als alternative Untersuchungsmethode wegen der geringeren Empfindlichkeit des  $^{15}\text{N}$ -Kerns jedoch gerade bei relativ schwerlöslichen Proben entscheidende Nachteile besitzen und zudem die Zuordnung der  $^{15}\text{N}$ -Resonanzen schwierig ist<sup>13)</sup>, bleibt die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie auf diesem Gebiet weiterhin ein wichtiges Hilfsmittel.

Wir danken dem *Fonds der Chemischen Industrie* für die Unterstützung dieser Arbeit und Frau Dr. A. Gronenborn für orientierende Messungen an Isopterin.

## Experimenteller Teil

Die untersuchten Verbindungen wurden nach Literaturvorschriften hergestellt<sup>6,14,15,16</sup> oder standen aus früheren Untersuchungen zur Verfügung. Zur Aufnahme der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren mit ext. Standard und  $^2\text{H}$ -Lock (10% Dioxan in  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta_{\text{TMS}}(^{13}\text{C})$  67.4, ohne Suszeptibilitätskorrektur; Ausnahme  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  als int. Lock- und Referenzsubstanz,  $\delta_{\text{TMS}}(^{13}\text{C})$  39.6) dienten ein WP-80- und ein WH-400-FT-NMR-Spektrometer der Fa. Bruker ( $^{13}\text{C}$ -Meßfrequenzen 20.15 bzw. 100.61 MHz). Lösungsmittel und digitale Auflösung enthalten Tab. 1 und 2. **9** ließ sich nur im Gemisch mit **10** herstellen<sup>16)</sup> und vermessen. Da beide Verbindungen bei der Synthese jedoch im Verhältnis 3:2 anfielen und **10** rein untersucht werden konnte, war das Spektrum der Mischung und damit auch das von **9** eindeutig zuzuordnen. Für beide Verbindungen fand man in  $\text{FSO}_3\text{H}$  starke Linienaufspaltungen aufgrund von  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung zwischen C-4a und den Protonen der 4-NH<sub>2</sub>-Gruppe sowie dem Proton an N-5. Zur Analyse der Kopplungskonstanten wurde daher  $\text{FSO}_3\text{D}$  als

Solvens verwendet. Hydrolyse von 2 zu Lumazin<sup>6)</sup> beobachtete man nur in wäßr. KOH-Lösung, die nach Erwärmen oder längerem Stehenlassen die Lumazin-<sup>13</sup>C-Signale<sup>1a)</sup> zeigte.

- 1) XXIV. Mittel.: *H. Günther, W. Herrig, H. Seel, S. Tobias, A. de Meijere* und *B. Schrader*, *J. Org. Chem.* **45**, 4329 (1980). – <sup>1a)</sup> III. Mittel.: *U. Ewers, H. Günther* und *L. Jaenicke*, *Chem. Ber.* **107**, 3275 (1974).
- 2) *H. Günther, A. Gronenborn, U. Ewers* und *H. Seel* in *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Molecular Biology*, *B. Pullman*, Ed., D. Reidel Publishing Co., Dordrecht 1978.
- 3) <sup>3a)</sup> *M. Schumacher* und *H. Günther*, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 4167 (1982), und dort zitierte Literatur. – <sup>3b)</sup> *S. Tobias* und *H. Günther*, *Tetrahedron Lett.* **23**, 4785 (1982). – <sup>3c)</sup> *J. Riand*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 105. – <sup>3d)</sup> *M. C. Vitorge, M. T. Chenon, C. Couprey* und *N. Lumbroso-Bader*, *Org. Magn. Reson.* **21**, 20 (1983).
- 4) *R. J. Pugmire* und *D. M. Grant*, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 697 (1968).
- 5) *G. Müller* und *W. v. Philipsborn*, *Helv. Chim. Acta* **56**, 2680 (1973).
- 6) *W. Pfeleiderer* und *H. Fink*, *Chem. Ber.* **96**, 2950 (1963).
- 7) *M.-T. Chenon, R. J. Pugmire, D. M. Grant, R. P. Panzica* und *R. P. Townsend*, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4636 (1975).
- 8) *A. Dieffenbacher* und *W. v. Philipsborn*, *Helv. Chim. Acta* **5**, 743 (1969).
- 9) *H. Rokos* und *W. Pfeleiderer*, *Chem. Ber.* **104**, 739 (1971).
- 10) *U. Ewers, H. Günther* und *L. Jaenicke*, *Chem. Ber.* **107**, 876 (1974).
- 11) Für eine analoge Darstellung der Pterindaten vgl. Lit.<sup>1a)</sup>.
- 12) *M. Schumacher* und *H. Günther*, *Chem. Ber.* **116**, 2001 (1983), und dort zitierte Literatur.
- 13) *W. Schwotzer, J. H. Bieri, M. Viscontini* und *W. v. Philipsborn*, *Helv. Chim. Acta* **61**, 2108 (1978).
- 14) *W. Pfeleiderer, M. Zondler* und *R. Mengel*, *Liebigs Ann. Chem.* **741**, 64 (1970).
- 15) *W. Pfeleiderer, E. Liedek, R. Lohrmann* und *M. Rukwied*, *Chem. Ber.* **93**, 2015 (1960).
- 16) *W. V. Curran* und *R. B. Angier*, *J. Org. Chem.* **27**, 1366 (1962).

[5/84]