

La cyclisation avec le chlorure d'éthoxalyle conduit aux dérivés 2-carbéthoxy I et VII. Les isoflavones IV et X ont été obtenues respectivement à partir de I et VII, par action de C_2H_5I en quantité équimoléculaire dans l'acétone, en présence de carbonate de potassium⁴). La saponification de I, VII, IV et X a conduit respectivement aux dérivés II, VIII, V et XI.

Par décarboxylation des carboxy-2-isoflavones II et VIII (chauffage à environ 10° en-dessus du point de fusion), nous avons obtenu les substances III et IX. Les composés VI et XII ont été synthétisés à partir de III et de IX, par action de C_2H_5I .

Les points de fusion des isoflavones ainsi obtenues sont indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2. *Isoflavones I–XII (Cristallisation d'un mélange alcool-eau)*

	P.F. obtenu ⁵⁾ °C	P.F. littérature ³⁾ °C		P.F. obtenu ⁵⁾ °C	P.F. littérature ³⁾ °C
I	212	211	VII	230	230
II	244–245	247	VIII	251–254	255
III	212–214	213	IX	191–193	195
IV	123–124	–	X	88–91	–
V	224–227	–	XI	176–179	–
VI	152–154	–	XII	138	–

Spectrophotométrie IR. Les spectres IR ont été déterminés à l'aide du spectrophotomètre PERKIN-ELMER double faisceau, modèle 125. Les substances étaient incorporées à du KBr.

SUMMARY

The infra-red absorption band of the carbonyl function of isoflavones lies in the region of 1620 cm^{-1} ; the absorption frequency becomes approx. 1650 cm^{-1} when an OH group is in the 5 position.

Battelle Memorial Institute, Genève

⁵⁾ P.F. corrigés.

6. Fluoreszierende Stoffe aus *Ephestia kühniella* ZELLER

4. Mitteilung¹⁾

Synthese von Erythropterin, Ekapterin und Lepidopterin

von M. Viscontini und H. Stierlin

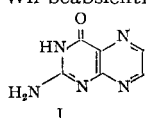
(1. X. 62)

In früheren Arbeiten²⁾ haben wir gezeigt, dass an der Doppelbindung des Pyrazinrings eines dihydrierten Pterins³⁾, dem wir die Struktur des 7,10-Dihydropterins (II) zuteilten, das aber auch 9,10-Dihydropterin (III) sein könnte, und das wir darum

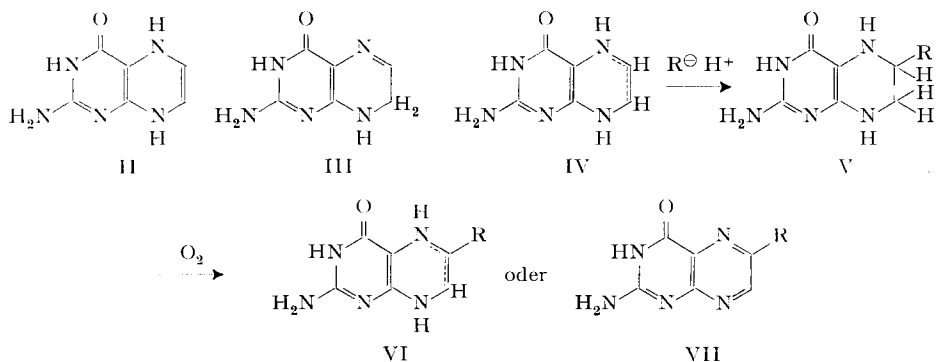
¹⁾ 3. Mitteilung: M. VISCONTINI & H. STIERLIN, *Helv.* 45, 2379 (1962).

²⁾ M. Viscontini & H. R. WEILENMANN, *Helv.* 42, 1854 (1959); H. S. FORREST *et al.*, *Helv.* 43, 1005 (1960).

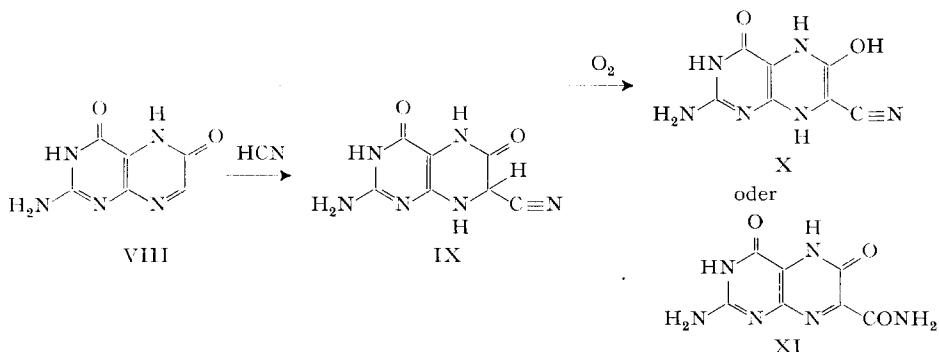
³⁾ Wir beabsichtigen, von nun an in unseren Veröffentlichungen das 2-Amino-6-hydroxy-pteridin (I) als «Pterin» zu bezeichnen, da I das Gerüst aller bis jetzt in der Natur gefundenen Pterine bildet. Xanthopterin (VIII) z. B. ist demnach 8-Hydroxypterin.



mit der Formel IV darstellen, nucleophile Reagenzien $R^{\ominus}H^{\oplus}$ angelagert werden können um substituierte Tetrahydropterine V zu bilden. Letztere lassen sich leicht oxydieren und ergeben dabei neue, am C-8 substituierte Dihydropterine VI bzw. Pterine VII.



In späteren Arbeiten haben wir diese Ergebnisse unter Verwendung von $H^{\oplus}CN^{\ominus}$ auf die 9,10-Doppelbindung des Xanthopterins (VIII) ausgedehnt⁴). CN^{\ominus} lagert sich an das Kohlenstoffatom des Xanthopterins an; es werden schliesslich Derivate der Xanthopterin-9-carbonsäure (X und XI) gebildet.



Während wir diese Untersuchungen durchführten, stellte PFLEIDERER die Struktur des Erythropterins fest⁵). Erythropterin wurde zum ersten Mal von SCHÖPF erhalten, der es aus dem Schmetterling *Catopsilia argante* isolierte⁶). Die ersten Versuche zur Aufklärung seiner Konstitution zeigten, dass es sich beim Erythropterin um ein in 9-Stellung substituiertes Xanthopterin handelt⁷). Seine Isolierung, Reinigung und Elementaranalyse waren aber so schwierig, dass es 25 Jahre dauerte, bis seine Struktur aufgeklärt werden konnte. PFLEIDERER hat gezeigt, dass die Erythropterin-Seitenkette aus einem Brenztraubensäurerest besteht, dessen Methylkohlenstoff als Methylengruppe am Kohlenstoffatom 9 des Xanthopterins haftet.

⁴) M. VISCONTINI & M. PIRAUX, *Helv.* **45**, 1000 (1962).

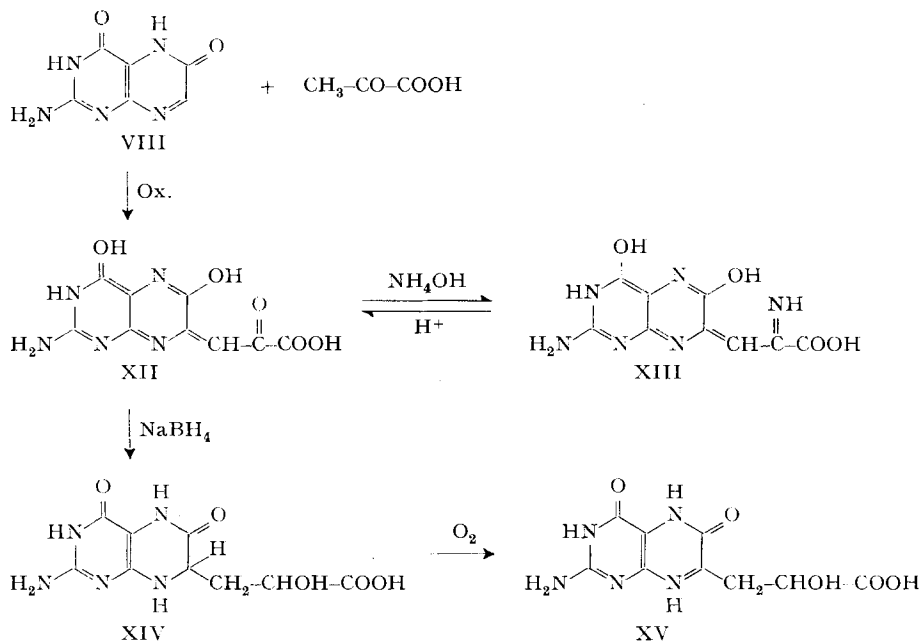
⁵) W. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **73**, 581 (1961); *Chem. Ber.* **95**, 2195 (1962).

⁶) C. SCHÖPF & C. BECKER, *Liebigs Ann. Chem.* **524**, 49 (1936).

⁷) R. PURRMANN & F. EULITZ, *Liebigs Ann. Chem.* **559**, 169 (1948).

Inzwischen haben wir neben Erythropterin (XII) zwei mit ihm nahe verwandte Pterine, das Lepidopterin (XIII) und das Ekapterin (XV), im Schmetterling *Ephestia kühniella* nachgewiesen und isoliert¹). Nach unseren Ergebnissen sollte Lepidopterin das Ketimin des Erythropterins sein, und Ekapterin sollte aus Erythropterin durch Reduktion der Ketogruppe in der Seitenkette entstehen.

Die Ergebnisse unserer Arbeit über Xanthopterin liessen vermuten, dass das Erythropterin aus Xanthopterin und Brenztraubensäure, deren Methylgruppe genügend reaktionsfähig ist und sich wie ein nucleophiles Reagenz verhalten kann, hergestellt werden könnte. Die ersten Vorversuche bestätigten schon die Richtigkeit unserer Hypothese⁸): Erythropterin kann ebenso leicht in saurem, wie in neutralem oder basischen Medium synthetisiert werden. Wir nehmen an, dass der Reaktionsmechanismus wie bei der Anlagerung von HCN an Xanthopterin zu formulieren ist. Die besten Ausbeuten haben wir mit Ameisensäure als Lösungsmittel bei 70° erzielt, und mit diesem im experimentellen Teil sehr genau beschriebenen Verfahren haben wir schon über 10 g synthetisches Erythropterin hergestellt. Seither hat SCHÖPF gezeigt, dass Erythropterin aus Xanthopterin auch mit Hilfe von Oxalessigsäure erhalten werden kann⁹).



Von Erythropterin (XII) ausgehend konnten wir leicht einerseits Lepidopterin (XIII) durch NH₄OH-Behandlung, andererseits racemisches Ekapterin (XV) durch NaBH₄-Reduktion (über XIV durch nachfolgende Luftoxydation) erhalten. Die drei synthetisch hergestellten Produkte (UV.-Spektren s. Fig. 1–3) sind mit den entsprechenden aus *Ephestia kühniella* isolierten Pterinen identisch. Bei der Elementar-

⁸) M. VISCONTINI & H. STIERLIN, Helv. 44, 1783 (1961).

⁹) C. SCHÖPF & K. H. GÄNSHIRT, Angew. Chem. 74, 153 (1962).

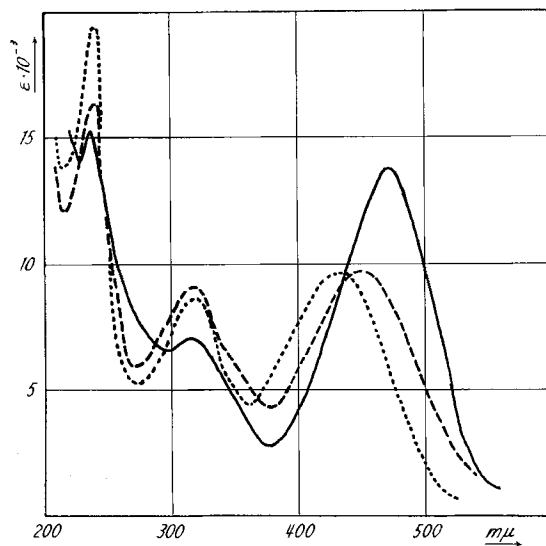


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektren von Erythropterin
 - - - pH 2 pH 6 ——— pH 12

analyse zeigten sich die üblichen Schwierigkeiten, die man bei Pterin-Analysen trifft. Die drei Substanzen kristallisieren mit einer Mol. Wasser, die man praktisch nur beim Erythropterin, und auch da nur unter drastischen Bedingungen, entfernen kann.

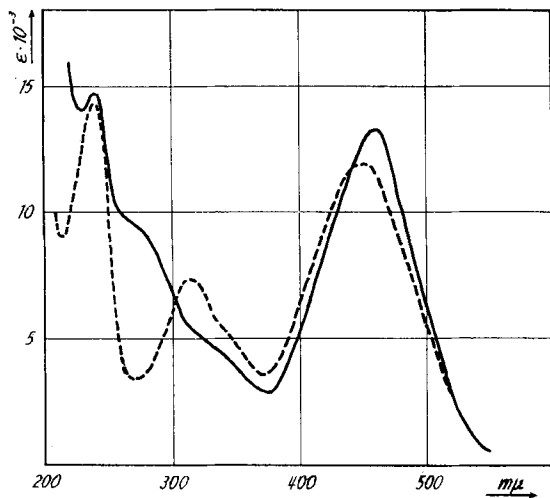


Fig. 2. UV.-Absorptionsspektren von Lepidopterin
 - - - pH 2 ——— pK 12

Die Mikroanalysen wurden in unserem Mikrolabor unter der Leitung von Herrn H. FROHOFER ausgeführt. — Diese Arbeit wurde ermöglicht durch materielle Unterstützung des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG.

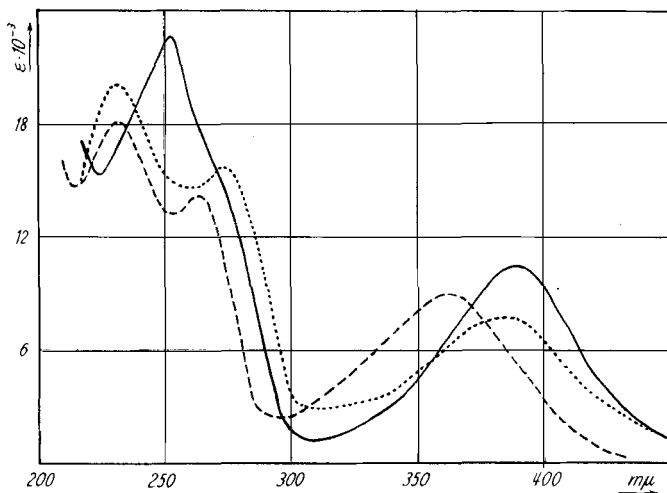


Fig. 3. UV.-Absorptionsspektren von Ektopterin
 - - - pH 2 pH 6 ——— pH 12

Experimentelles. — *Erythropterin (XII) aus Xanthopterin (VIII)*. Die Lösung von 200 mg Xanthopterin in 7,5 ml 85-proz. Ameisensäure versetzt man mit 2,5 ml Brenztraubensäure und erhitzt 5 Min. auf 70°. Längeres Erhitzen oder Erhitzen auf höhere Temperaturen führt zu blaufluoreszierenden Zersetzungsprodukten. Ein grösserer Überschuss an Brenztraubensäure hat sich als unwirksam erwiesen. Ein Zusatz von Wasser nach Lösen des Xanthopterins in Ameisensäure setzt die Ausbeute an Erythropterin herab. Man lässt den Ansatz 5 Tage bis eine Woche am Tageslicht stehen und chromatographiert dann an einer Papierpulversäule (WHATMAN, Nr. 1, Standard Grade) von 9 cm Durchmesser und 25 cm Länge mit 0,3-proz. Ammoniumchloridlösung. Pro Säule werden 2 oder höchstens 3 Ansätze zu 200 mg genommen. Man trägt die Reaktionslösung sorgfältig auf und spült sogleich mit etwa der gleichen Menge 0,3-proz. Ammoniumchloridlösung nach. Die Substanz soll möglichst langsam eindringen, man reguliert daher die Laufgeschwindigkeit mit einer Kapillare. 2- bis 3mal wird dann mit jeweils 30 bis 35 ml der Ammoniumchloridlösung nachgespült. Nun lässt man so lange mit Ammoniumchloridlösung laufen, bis das im UV.-Licht orange fluoreszierende Erythropterin $\frac{1}{2}$ bis $\frac{2}{3}$ der Säule durchwandert hat. Hierauf wird Wasser als Laufmittel verwendet. Bei dieser Methode ist der Salzgehalt, wenn das Erythropterin durchfließt, noch genügend hoch, so dass sich das Pterin nicht zersetzt, und auf der anderen Seite ist er so niedrig, dass er beim Einengen nicht mehr stört. Die verschiedenen aufgefangenen Fraktionen werden papierchromatographisch auf ihren Reinheitsgrad geprüft. Die reinen Fraktionen werden vereinigt und so stark eingeeengt, dass die Hauptmasse des Erythropterins als rotes, mikrokristallines Pulver ausfällt. Das Erythropterin wird dann abzentrifugiert und zuerst 3mal mit Alkohol, dann 3mal mit Äther gewaschen. Bezogen auf eingesetztes Xanthopterin beträgt die Ausbeute an reinem Produkt zwischen 15 und 17%.

Für die Umkristallisation werden 200 mg Erythropterin unter Eiskühlung in 100 ml Wasser suspendiert, dann fügt man soviel 1N NaOH zu, dass der grösste Teil des Pterins in Lösung geht. Inzwischen hat man 50 ml einer eisgekühlten 0,4N Salzlösung vorbereitet, in die jetzt die alkalische Erythropterinlösung direkt hinein filtriert wird; das ausgefallene blutrote Erythropterin wird abzentrifugiert, ein- bis zweimal mit Wasser zur Entfernung von Säurespuren und dann in der üblichen Weise mit Alkohol und Äther gewaschen.

Die Elementaranalyse des Erythropterins erwies sich als besonders schwierig. Es enthält Kristallwasser, das erst nach 5stündigem Erhitzen auf 100° bei 0,1 Torr entfernt ist.

$C_9H_7O_5N_5$ (265,19) Ber. C 40,76 H 2,66 N 26,41% Gef. C 40,57 H 3,05 N 25,06

Lepidopterin (XIII) aus Erythropterin (XII). Eine Suspension von 200 mg Erythropterin in 100 ml Wasser versetzt man tropfenweise mit Ammoniak, bis die Substanz nahezu in Lösung gegangen ist. Dann lässt man ca. 2 Tage stehen. Nach dieser Zeit hat sich zwar noch nicht alles Erythropterin umgesetzt, jedoch nehmen die Zersetzungsprodukte allmählich zu. Man stellt mit Essigsäure auf pH 6 ein, konzentriert die Lösung und chromatographiert sie an einer kurzen, breiten Säule (12 bis 15 cm Länge, 12 cm Durchmesser) mit 1-proz. Ammoniumchloridlösung, die alles herauswäscht mit Ausnahme des Lepidopterins, das oben an der Säule haften bleibt. Es wird mit Wasser cluiert; nach starkem Einengen fällt das Lepidopterin als mikrokristallines rotbraunes Pulver aus. Durch Zugabe von Alkohol lässt sich die Ausbeute erhöhen. Das Lepidopterin wird zentrifugiert und mit Alkohol und Äther gewaschen. Die Ausbeuten liegen bei 20–25%. Eine Umkristallisation ist nicht möglich, da dabei in grösseren Mengen Erythropterin zurückgebildet wird. Das so erhaltene Lepidopterin enthält Kristallwasser, das sich nicht entfernen lässt. Vor der Analyse wurde das Lepidopterin 5 Std. bei 80°/0,1 Torr getrocknet.

$C_9H_8O_4N_6, H_2O$ (282,22) Ber. C 38,30 H 3,57 N 29,78% Gef. C 37,06 H 3,37 N 29,12%

Ekapterin (XV) aus Erythropterin (XII). Die Suspension von 200 mg Erythropterin in 100 ml Wasser wird tropfenweise mit 1*N* Natronlauge versetzt, bis die Hauptmenge in Lösung gegangen ist. Das pH soll etwa bei 9 liegen. Hierauf fügt man 300 mg $NaBH_4$ zu und lässt stehen. Die Umsetzung des Erythropterins lässt sich papierchromatographisch leicht verfolgen. Ist nahezu alles Erythropterin verschwunden, was etwa 1 Std. dauert, dann wird mit Essigsäure auf pH 4–5 gebracht. Nach starkem Einengen wird die Reaktionslösung derart mit Propanol und Ammoniak versetzt, dass man ein Gemisch der Zusammensetzung Propanol/1-proz. NH_3 -Lösung (2:1) erhält; daraufhin wird an einer Papierpulversäule mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch chromatographiert. Die das reine Ekapterin enthaltende Fraktion wird auf etwa 15 ml eingengt, mit Salzsäure auf pH 4 gebracht und mit soviel Aceton versetzt, dass ein gelber Niederschlag ausfällt. Man lässt einige Zeit stehen, zentrifugiert den Niederschlag ab und wäscht 3mal mit Alkohol und mit Äther. Ausbeute rund 40%.

Unreine Fraktionen werden gesammelt und erneut an einer Säule mit Propanol/1-proz. NH_3 -Lösung (2:1) gereinigt.

Für die Umkristallisation werden 80 mg Ekapterin in möglichst wenig Wasser auf 70 bis 80° erhitzt. Sobald alles in Lösung gegangen ist, fügt man etwas Aktivkohle zu, belässt kurze Zeit bei 80° und filtriert dann einige Male durch das gleiche Filter. Beim Abkühlen fällt das Ekapterin aus. Nach Kühlen im Eisbad wird abzentrifugiert und in der üblichen Weise mit Alkohol und Äther gewaschen. Das reine Ekapterin ist eine gelbe, mikrokristalline Substanz, die man nicht von ihrem Kristallwasser befreien kann. Vor der Analyse wurde das Ekapterin 5 Std. bei 80°/0,1 Torr getrocknet.

$C_9H_9O_5N_5, H_2O$ (285,22) Ber. C 37,90 H 3,89 N 24,56% Gef. C 38,64 H 3,81 N 25,38%

ZUSAMMENFASSUNG

Die Synthese des Erythropterins aus Xanthopterin und Brenztraubensäure wird beschrieben. Erythropterin lässt sich durch Reduktion mit $NaBH_4$ und nachfolgende Lufoxydation in Ekapterin und durch Behandlung mit NH_4OH in Lepidopterin überführen. Alle drei synthetischen Pterine stimmen in jeder Hinsicht mit den drei aus *Ephestia kühniella* ZELLER isolierten Pterinen überein.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich