

## 292. Über Pterinchemie

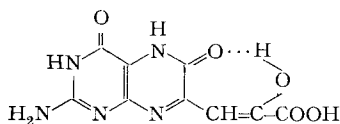
8. Mitteilung<sup>1)2)</sup>

## Struktur und Protonenresonanz-Spektren einiger Xanthopterinderivate

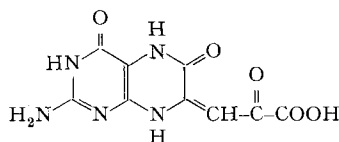
von L. Merlini, W. von Philipsborn und M. Viscontini

(13. IX. 63)

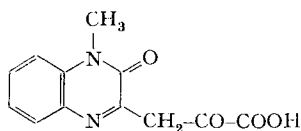
Für das rote Schmetterlingspigment Erythropterin wurde die Struktur einer 3-(9-Xanthopteryl)-brenztraubensäure festgelegt<sup>3)</sup> und durch Synthese bewiesen<sup>4)</sup>. Das sehr charakteristische UV.-Spektrum des Naturstoffes (langwell.  $\lambda_{max} = 450 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,02$ ,  $\text{pH} = 1,0$ ) veranlasste PFLEIDERER, im Vergleich mit dem Spektrum von 9-Methylxanthopterin (IV) eine vollständig enolisierte Seitenkettenstruktur (I) anzunehmen. Diese Struktur schien durch das sehr ähnliche UV.-Spektrum von 3-[1-Methyl-2-oxo-1,2-dihydro-chinoxalyl-(3)]-brenztraubensäure (III), für welche PFLEIDERER ebenfalls eine Enol-Struktur postulierte, bestätigt zu sein. Auf Grund von NMR.- und UV.-Spektren von 9-Acetyl-xanthopterin (VIIa) und Erythropterin hat der eine von uns kürzlich<sup>5)</sup> die alternative Seitenkettenstruktur entsprechend Formel II vorgeschlagen, welche jetzt durch eine eingehende Untersuchung bestätigt wurde<sup>6)</sup>.



I



II



III

Mit dem Ziel, einen genaueren UV.-spektroskopischen Vergleich von Erythropterin mit anderen Xanthopterinderivaten vorzunehmen, welche eine der Enolstruktur I möglichst ähnliche ungesättigte Seitenkettenstruktur aufweisen, haben wir nun das von RUSSELL *et al.*<sup>7)</sup> aus 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin und Brenztraubensäure

<sup>1)</sup> 7. Mitteilung: M. VISCONTINI & M. PIRAUX, *Helv.* **46**, 1537 (1963).

<sup>2)</sup> 4. Mitteilung über Protonenresonanz-Spektren von Pterinen; 3. Mitteilung: *Helv.* **46**, 2592 (1963).

<sup>3)</sup> W. PFLEIDERER, *Chem. Ber.* **95**, 2195 (1962).

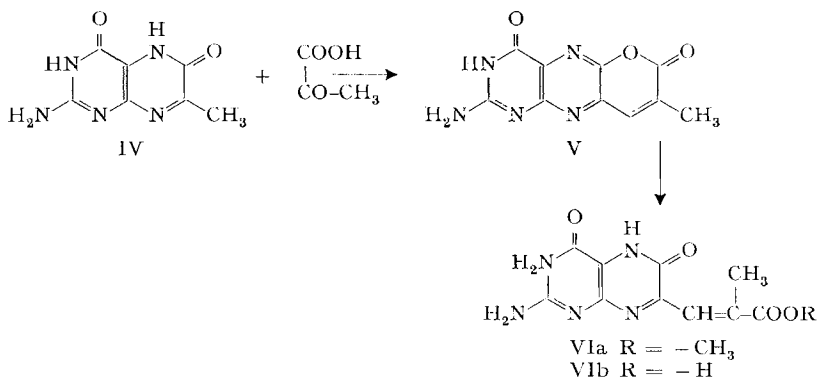
<sup>4)</sup> M. VISCONTINI & H. STIERLIN, *Helv.* **46**, 51 (1963).

<sup>5)</sup> W. VON PHILIPSBORN, H. STIERLIN & W. TRABER, III. Internat. Pteridin-Symposium, Stuttgart 1962, Pergamon Press, im Druck.

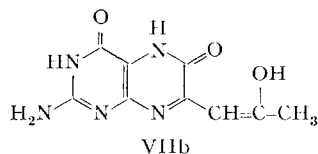
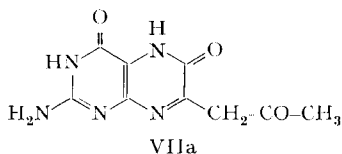
<sup>6)</sup> W. VON PHILIPSBORN, H. STIERLIN & W. TRABER, *Helv.* **46**, 2592 (1963).

<sup>7)</sup> P. B. RUSSELL, R. PURRMANN, W. SCHMITT & G. H. HITCHINGS, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 3412 (1949).

synthetisierte 2-Methyl-3-[2-amino-6,8-dihydroxy-pteridiny]-(9)]-acrylsäure- $\delta$ -lacton (V) herangezogen. Die Verbindung konnten wir auch aus 9-Methylxanthopterin (IV) und Brenztraubensäure herstellen, was eine weitere Bestätigung obiger Struktur bedeutet. Der Vergleich der beiden synthetischen Produkte erfolgte papierchromatographisch sowie durch UV-, IR- und NMR.-Spektren. Behandlung von V ( $\lambda_{C=O}$ : 5,77  $\mu$ ) mit absoluter methanolischer Salzsäure lieferte den Methylester VIa ( $\lambda_{C=O}$ : 5,87  $\mu$ ), welcher mit NaOH zu der korrespondierenden Säure VIb ( $\lambda_{C=O}$ : 5,90  $\mu$ ) verseift wurde.



Für den Strukturbeweis dieser Verbindungen wurden die NMR.-Spektren herangezogen. Das 60 MHz NMR.-Spektrum von V in Trifluoressigsäure (Fig. 1) zeigt ein Dublett bei 2,50 ppm ( $-\text{CH}=\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ ), ein Quartett bei 7,99 ppm ( $-\text{CH}=\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ ) und ein breites, zwei Protonen entsprechendes Signal bei ca. 8,6 ppm für die NH<sub>2</sub>-Gruppe an C-2. Die Koppelungskonstante zwischen Vinyl- und Methylprotonen beträgt  $J \simeq 1,3$  Hz und entspricht einer allylischen 1,3-Koppelung<sup>8)</sup>. Der Ester VIa und die Säure VIb zeigen sehr ähnliche NMR.-Spektren mit einer Koppelungskonstante gleicher Grössenordnung,  $J \simeq 1,5$  Hz. Es muss hier darauf hingewiesen werden, dass eine solche Koppelung in 9-Acetyl-xanthopterin (VIIa), dessen mögliche Enolstruktur der Formel VIIb entspräche, nicht beobachtet wird<sup>6)</sup>. – Dass im NMR.-Spektrum von VIa die breite Absorption der NH<sub>2</sub>-Gruppe an C-2 unter dem Signal



des Vinylprotons bei 8,15 ppm liegt, zeigt das NMR.-Spektrum in Deutero-trifluoressigsäure (Fig. 2), in welcher das  $-\text{NH}_2$ -Signal wegen Deuteriumaustausches verschwindet. – In keinem NMR.-Spektrum von Xanthopterin-derivaten in  $\text{CF}_3\text{COOH}$  werden die anderen drei NH-Protonen (an N-1, N-3 und N-7) sichtbar, weil sie einem raschen Austausch mit den Protonen des Lösungsmittels unterliegen.

<sup>8)</sup> D. J. COLLINS, J. J. HOBBS & S. STERNHELL, *Tetrahedron Letters* 1963, 197.

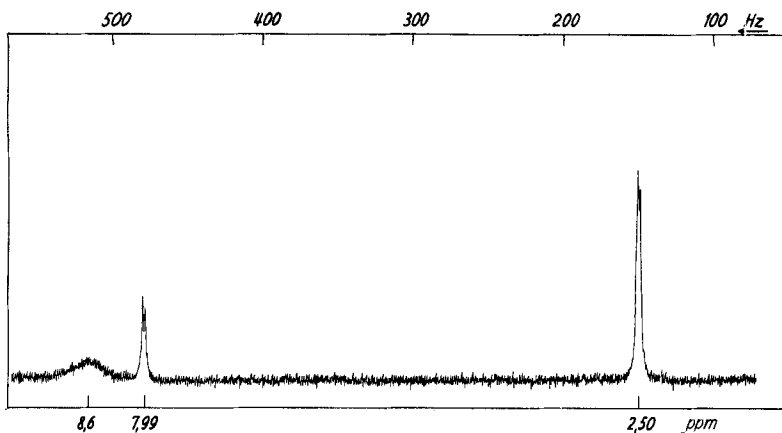


Fig. 1. NMR.-Spektrum von Lacton V in Trifluoressigsäure

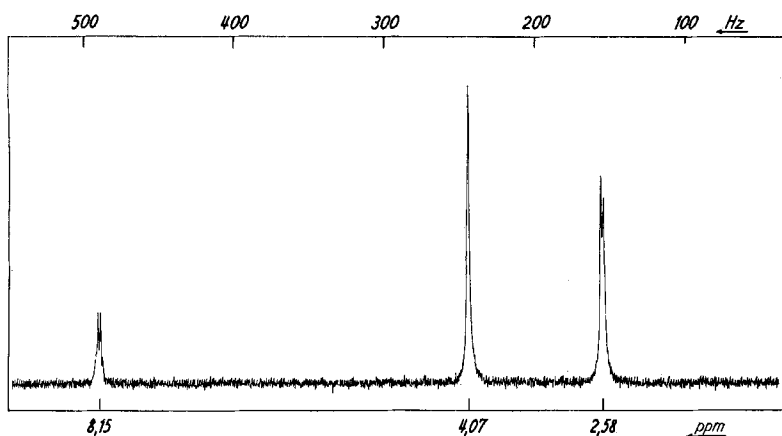


Fig. 2. NMR.-Spektrum von Xanthopteryl-acrylsäure-methylester (VIa) in Deuterio-trifluoressigsäure

Alle diese Ergebnisse beweisen die Richtigkeit der Strukturen V, VIa und VIb (mit Ausnahme der Festlegung der *cis,trans*-Isomerie in VIa und VIb).

In ihren UV.-Spektren zeigen V und VIb (s. Fig. 3 und 4) den gleichen Absorptionstyp wie Xanthopterin und 9-Methylxanthopterin, mit einer bathochromen Verschiebung des langwelligen Maximums, welche auf die Konjugation des Acrylsäurerestes mit dem Xanthopterinchromophor zurückgeführt werden muss. Hingegen liegt dem 9-Acetonylxanthopterin- bzw. Erythropterin-Spektrum mit zwei langwelligen Maxima<sup>3)4)6)</sup> zweifellos ein anderes Chromophor zu Grunde.

Zur gleichen Schlussfolgerung gelangten TAYLOR & HAND<sup>9)</sup> hinsichtlich der Struktur von 3-[2-Methyl-chinoxalyl-(3)]-brenztraubensäure-äthylester (VIIIa), für welchen die Autoren auf Grund von spektroskopischen Daten der tautomeren Formulierung VIIIb gegenüber einer Seitenketten-Enolstruktur den Vorzug geben. Hier-

<sup>9)</sup> E. C. TAYLOR & E. SMAKULA HAND, J. Amer. chem. Soc. 85, 770 (1963).

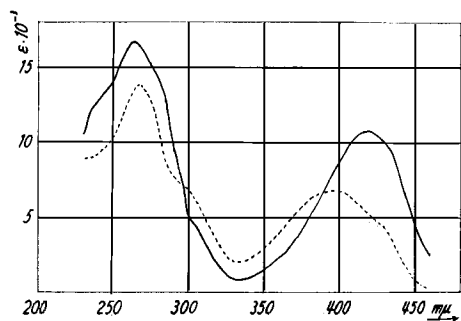


Fig. 3. UV.-Spektrum von Lacton V  
 ----- pH 1 ————— pH 13

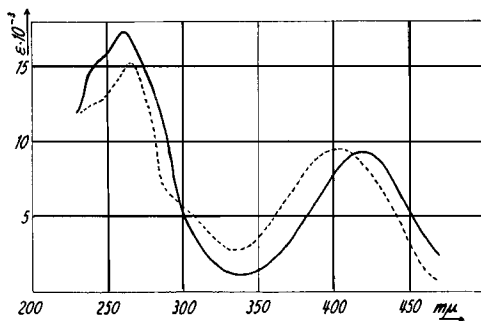
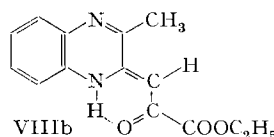
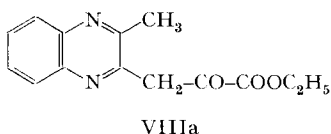
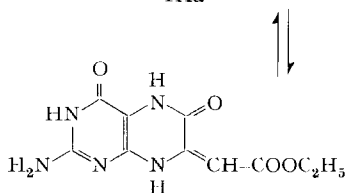
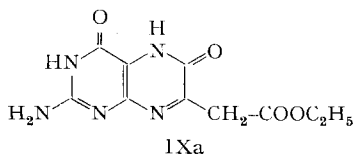


Fig. 4. UV.-Spektrum von Xanthopteryl-  
 acrylsäure (VIb)  
 ----- pH 1 ————— pH 13

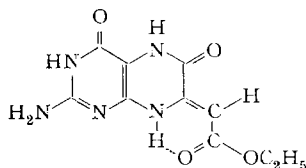
mit kann für das Chinoxalylderivat III, welches zu einem UV.-spektroskopischen Vergleich mit Erythropterin herangezogen wurde<sup>3)</sup>, gleichfalls eine der Formel VIIIb analoge Struktur erwartet werden. NMR.-Untersuchungen in dieser Reihe werden gegenwärtig in unseren Laboratorien unternommen.



Als weitere und wichtigste Modells substanz in dieser Reihe wurde der von TSCHESCHE *et al.*<sup>10)</sup> beschriebene 2-(9-Xanthopteryl)-essigsäure-äthylester (IXa) untersucht, da für diese Verbindung nur eine alternative Formulierung IXb der Seitenkette denkbar ist. Das nach dem Verfahren von TSCHESCHE erhaltene Produkt erforderte eine sorgfältige chromatographische Reinigung an Cellulosesäulen und lieferte eine reine Substanz in nur geringer Ausbeute.



bzw.



Das NMR.-Spektrum dieses Pterins in Dimethylsulfoxid- $d_6$  (Fig. 5) zeigt, dass die Verbindung in diesem Lösungsmittel in der tautomeren Form IXb vorliegt. Es weist die Singulett-Absorption eines Vinylprotons bei 5,58 ppm und keine Methyl-

<sup>10)</sup> R. TSCHESCHE, H. BARKENMEYER & G. HEUSCHKEL, Chem. Ber. 88, 1258 (1955).

absorption ausser der Quartett-Absorption der Ester-methylengruppe bei 4,17 ppm auf. Die NH-Signale entsprechen 5 Protonen und werden wie folgt zugeordnet: 10,93 ppm (zwei H): Amidprotonen an N-1 und N-7; 10,72 ppm (ein H): mit Carboxylgruppe cheliertes Proton an N-10; 6,58 ppm (zwei H):  $\text{NH}_2$ -Gruppe an C-2. Eine analoge Zuordnung der verschiedenen NH-Absorptionen wurde bereits in den NMR.-Spektren von 9-Acetyl-xanthopterin und Erythropterin-methylester vorgenommen<sup>6)</sup>. In Trifluoressigsäure hingegen liegt die Verbindung IX als ca. 1:1-Gemisch der tautomeren Formen IXa  $\rightleftharpoons$  IXb vor (Fig. 6). Zur Form IXb gehört eines der beiden Triplette bei 1,44 und 1,37 ppm ( $-\text{COO}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ), die Hälfte der Quartett-Absorption bei 4,42 ppm ( $-\text{COO}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ) und das Singulett bei 6,39 ppm ( $-\text{CH}-\text{COOC}_2\text{H}_5$ ). Für die Struktur IXa erscheinen das andere Triplett bei hohen Feldstärken, die andere Hälfte des Quartetts sowie ein Singulett bei 4,23 ppm ( $-\text{CH}_2-\text{COOC}_2\text{H}_5$ ). Eine Analyse der NH-Absorptionen ist wegen der Breite der Lösungsmittelabsorption und Austauschproben erschwert.

Ein Beweis dafür, dass IXa und IXb in  $\text{CF}_3\text{COOH}$  im Gleichgewicht stehen, liefert das NMR.-Spektrum der Substanz in  $\text{CF}_3\text{COOD}$ , da sowohl das Singulett des Vinylprotons bei 6,39 ppm als auch dasjenige der Methylengruppe bei 4,23 ppm infolge Deuteriumaustausches verschwindet. Aus diesen Ergebnissen erscheint die Schlussfolgerung gerechtfertigt, dass die Wasserstoffbrücke zwischen N-10 und der Carboxylgruppe wesentlich zur Stabilisierung der Struktur IXb beiträgt<sup>11)</sup>.

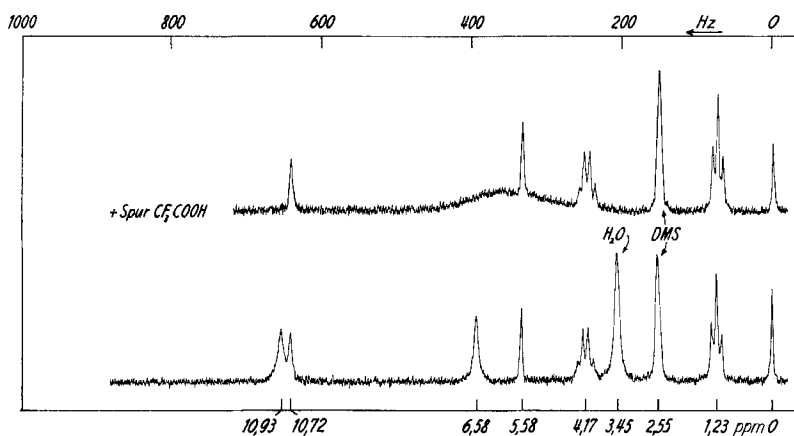


Fig. 5. NMR.-Spektrum von Xanthopteryl-essigsäure-äthylester (IX) in deuteriertem Dimethylsulfoxid

Das UV.-Spektrum von IX in verdünntem Äthanol (Fig. 7) zeigt die zwei auch für 9-Acetyl-xanthopterin, Lepidopterin und Erythropterin typischen langwelligeren Maxima bei 306 und 373  $\text{m}\mu$  (pH:7).

Aus dieser Arbeit ergibt sich eindeutig die Existenz von zwei Kategorien 9-substituierter Xanthopterinderivate.

In der ersten Gruppe befinden sich Produkte mit der klassischen Struktur des Xanthopterins selbst, wie z.B. 9-Methylxanthopterin, Xanthopterin-9-carbonsäure,

<sup>11)</sup> Y. IWANAMI, Nippon Kagaku Zasshi 83, 593 (1962).

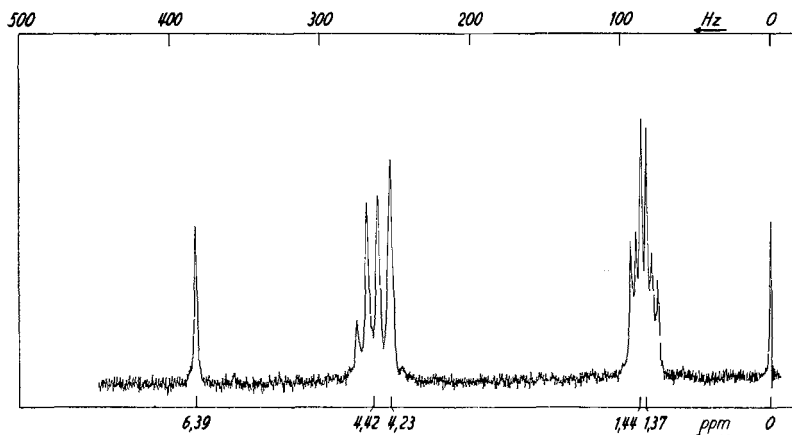


Fig. 6. NMR.-Spektrum von Xanthopteryl-essigsäure-äthylester (IX) in Trifluoressigsäure

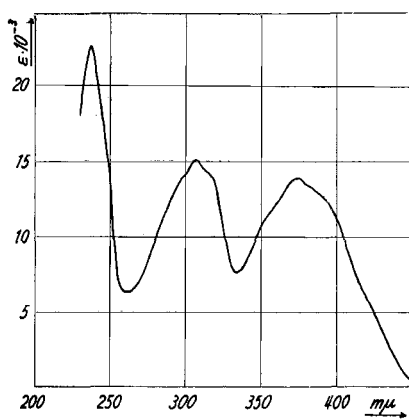
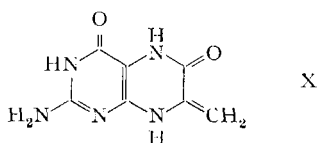


Fig. 7. UV.-Spektrum von Xanthopteryl-essigsäure-äthylester (IX), gelöst in neutralem Äthanol

Ekapterin usw. Zu ihnen gehören auch 9-substituierte Xanthopterinderivate, wie die Substanzen V und VI mit Acrylsäure-Seitenketten.

Zu der zweiten Gruppe gehören solche Derivate, welche eine exocyclische Doppelbindung in Stellung 9 aufweisen. Diese Produkte können als Derivate des hypothetischen 9-Methylen-9,10-dihydro-xanthopterins (X) betrachtet werden. Offenbar sind solche Pterin-Strukturen jedoch nur stabil, wenn die exocyclische Doppelbindung mit einer O=C- oder N=C-Gruppierung in der Seitenkette konjugiert ist (9-Acetonyl-xanthopterin, Erythropterin, Lepidopterin, Substanz IX, usw.). Während 9-Acetonyl-xanthopterin und Erythropterin sowohl in Dimethylsulfoxid als auch in  $\text{CF}_3\text{COOH}$  praktisch ausschliesslich in der Methylen-dihydroxanthopterin-Struktur vorliegen,



konnte für das Pterin IX nachgewiesen werden, dass die Verbindung in Dimethylsulfoxid als Methylenderivat IXb zu formulieren ist, jedoch in  $\text{CF}_3\text{COOH}$  ein ca. 1:1-Gemisch der beiden tautomeren Formen IXa  $\rightleftharpoons$  IXb darstellt.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Herr H. FROHOFER) durchgeführt. Wir danken Fräulein Dr. R. MONDELLI für die sehr sorgfältige Aufnahme der NMR.-Spektren und dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für seine materielle Unterstützung.

### Experimenteller Teil

*2-Methyl-3-[2-amino-6,8-dihydroxy-pteridinyl-(9)]-acrylsäure- $\delta$ -lacton-sulfat.* – a) Aus 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidinsulfat<sup>7)</sup>: 1 g 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidinsulfat, 12 ml Brenztraubensäure und 2 ml konz. Schwefelsäure werden 20 Min. auf dem Wasserbad auf 80–90° erhitzt. Man kühlt, filtriert durch ein Glasfilter und wäscht mit Essigsäure, Essigester und Äther. Ausbeute 0,8 g gelbe Kristalle.

b) Aus 9-Methylxanthopterin (IV): 0,5 g 9-Methylxanthopterin werden wie oben mit 6 ml Brenztraubensäure und 1 ml konz. Schwefelsäure behandelt. Man erhält 0,3 g rote Kristalle, die beim Behandeln mit Wasser oder Alkohol sofort gelb werden.

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{N}_5, \text{H}_2\text{SO}_4$	Ber. C 34,99	H 2,64	N 20,40	S 9,34%
(343,27)	Gef. „ 35,76	„ 2,63	„ 20,71	„ 9,36%

*Freies Lacton.* 50 mg des Sulfats werden in 10 ml Wasser suspendiert und 1 Min. auf 50–60° erwärmt. Man kühlt, zentrifugiert und wäscht mit Wasser, Alkohol und Äther.

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{N}_5$ (245,20)	Ber. C 48,98	H 2,88	N 28,56%	Gef. C 48,62	H 3,06	N 28,53%
--	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

*2-Methyl-3-(9-xanthopteryl)-acrylsäure-methylester (VIa).* In eine Suspension von 50 mg Lacton V in 15 ml absolutem Methanol wird ein starker Strom Chlorwasserstoff eingeleitet. Die Substanz geht langsam in Lösung, dann fallen gelbe Nadeln vom Hydrochlorid des Esters VIa aus. Man lässt zwei Tage stehen und zentrifugiert. Das so erhaltene Produkt wird mit wenig absolutem Methanol gewaschen. Schon beim Behandeln mit 95-proz. Methanol setzt sich das gelbe Hydrochlorid in den orangegefärbten freien Ester VIa um, der mit Äther gewaschen und zentrifugiert wird.

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}_5$ (277,24)	Ber. C 47,65	H 4,00	N 25,26%	Gef. C 46,45	H 4,53	N 24,36%
---	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

*2-Methyl-3-(9-xanthopteryl)-acrylsäure (VIb).* 25 mg Ester VIa werden in 6 ml 10-proz. NaOH gelöst und 48 Std. stehengelassen. Beim Neutralisieren mit verd. Salzsäure erhält man einen orangefarbenen Niederschlag, der nach einigen Minuten dunkelrot wird. Man zentrifugiert und wäscht mit Wasser, Alkohol und Äther.

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_4\text{N}_5, 2\text{H}_2\text{O}$ (299,24)	Ber. C 40,14	H 4,38	N 23,41%	Gef. C 40,07	H 4,25	N 22,87%
---	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

*Sulfat der Säure VIb.* 20 mg Säure VIb werden in 5 ml Schwefelsäure (1:1) gelöst und 2 Tage stehengelassen. Der feine Niederschlag wird zentrifugiert, mit abs. Äthanol und Äther gewaschen und wieder in 1 ml konz. Schwefelsäure gelöst. Man gibt 2 Tropfen Wasser zu und zentrifugiert nach 2 Tagen die gelben Kristalle des Sulfats, die wie oben gewaschen werden.

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_4\text{N}_5, \text{H}_2\text{SO}_4$	Ber. C 33,24	H 3,07	N 19,39	S 8,87%
(361,29)	Gef. „ 32,67	„ 3,86	„ 19,28	„ 9,1%

*2-(9-Xanthopteryl)-essigsäure-äthylester (IXa).* Die Suspension von 3 g 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidinsulfat in 50 ml Wasser versetzt man mit 3 g  $\text{BaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$  und filtriert das Bariumsulfat ab. Hierauf fügt man 1,88 g Oxalessigsäure-diäthylester, 200 ml Äthanol und 2 ml konz. Salzsäure zu und kocht 3 Std. Man filtriert und dampft das Filtrat ein. Der Rückstand wird mit 200 ml Butanol, das 5 ml 1 N HCl enthält, extrahiert. Den Extrakt wäscht man 4mal mit je 50 ml Wasser und dampft denselben ein. Der Rückstand wird solange mit 0,2-proz. Essigsäure extrahiert, bis das Lösungsmittel farblos bleibt. Darauf chromatographiert man mit dem gleichen Lösungsmittel an Säulen (9  $\times$  20 cm) von WHATMAN-Cellulosepulver. Die grün fluoreszierenden Banden werden aufgefangen und eingengt, der Niederschlag zentrifugiert und mit Äthanol und Äther gewaschen.

$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}_5, \text{H}_2\text{O}$ (283,24)	Ber. C 42,40	H 4,63	N 24,23%	Gef. C 42,91	H 4,56	N 24,58%
---	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

Rf-Werte: 0,32 (Wasser); 0,19 (NH<sub>4</sub>Cl 3-proz.); 0,56 (*i*-Prop/1-proz. Ammoniak, 2:1); 0,71 (*n*-But/Eisessig/Wasser, 20:3:7).

*NMR.-Spektren.* Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-A-60(MHz)-Kernresonanz-Spektrographen aufgenommen. Die Konzentration der Lösungen betrug 5–10%. Als interner Standard wurde Tetramethylsilan verwendet. Die Messtemperatur betrug 31°.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Im Zusammenhang mit der Struktur des Schmetterlingspigmentes Erythropterin wurden einige Xanthopterinderivate untersucht und die Tautomeriefragen mittels NMR.- und UV.-Spektren abgeklärt.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich

### 293. Synthesen von Schwefelsäureestern des Dopamins und verwandten Verbindungen

von **B. Hegedüs**

(18. IX. 63)

In gleicher Weise wie andere phenolische Substanzen werden auch die Catecholamine und deren Metabolite vom Organismus nicht nur in freier Form, sondern hauptsächlich als Heteroside oder als Schwefelsäureester ausgeschieden. Die Kenntnis der Eigenschaften und Möglichkeiten der Identifizierung dieser Substanzen in geringer Menge sind wesentliche Voraussetzungen für Untersuchungen über den Stoffwechsel von Dopa bzw. Adrenalin und Noradrenalin. In dieser Mitteilung beschreiben wir die eindeutige Synthese der vier in der Tabelle 1 aufgeführten Schwefelsäureester.

Die gut kristallisierenden, in Wasser äusserst leicht löslichen Schwefelsäureester I, III und IV sind als innere Salze stabil. Fehlt die für die Salzbildung nötige Amino-gruppe, wie in II, so wird die Substanz vorteilhaft als Kaliumsalz isoliert. Von anderen Vertretern dieses Typus ist bekannt<sup>1)</sup>, dass sie gegen Säuren empfindlich sind. Auch die aufgeführten Verbindungen werden schon durch kurzes Kochen mit 1N Salzsäure unter Abspaltung von Schwefelsäure hydrolysiert. Charakteristisch für das Vorliegen der mit Schwefelsäure veresterten Hydroxylgruppe im Vergleich zum freien Phenol ist das Fehlen des Absorptionsmaximums bei 295 m $\mu$  in Alkohol.

Für die Herstellung der Schwefelsäureester hat sich die Methode von WHITEHEAD mit Chlorsulfonsäure in Chloroform bei Gegenwart von Pyridin<sup>1)</sup> besser bewährt als die Veresterung mit konzentrierter Schwefelsäure bei tiefer Temperatur. Bei Phenolen mit zusätzlichen funktionellen Gruppen mussten geeignete Schutzgruppen verwendet werden, welche sich zu gegebener Zeit unter milden Bedingungen wieder entfernen liessen. Die Endprodukte wurden meist mit Hilfe von Ionenaustauschern gereinigt.

<sup>1)</sup> J. E. M. WHITEHEAD, A. R. MORRISON & L. YOUNG, *Biochem. J.* 51, 586 (1952).