

- [9] *P. v. R. Schleyer*, Abstracts of the 130th National Meeting of the American Chemical Society, 1956, p. 290.
- [10] *C. K. Alden & D. I. Davies*, J. chem. Soc. (C) 1968, 709.
- [11] *P. J. Kropp & H. J. Krauss*, J. Amer. chem. Soc. 89, 5199 (1967).
- [12] *R. Hoffmann & R. B. Woodward*, J. Amer. chem. Soc. 87, 2511 (1965).
- [13] *J. Mantecón, L. Cortes, E. Payo & C. Piemonti*, J. org. Chemistry 33, 1235 (1968).
- [14] *M. Hanack & H.-J. Schneider*, Angew. Chem., Int. Ed. 6, 666 (1967).
- [15] *G. Dann Sargent*, Quart. Rev. 20, 301 (1966).
- [16] *C. H. De Puy, I. A. Ogawa & J. C. McDaniel*, J. Amer. chem. Soc. 83, 1668 (1961).
- [17] *H. C. Brown & C. J. Kim*, J. Amer. chem. Soc. 90, 2082 (1968), footnote 21.
- [18] *A. G. Catchpole, E. D. Hughes & C. K. Ingold*, J. chem. Soc. 1948, 8.
- [19] *C. W. Jefford, S. Mahajan, J. Waslyn & B. Waegell*, J. Amer. chem. Soc. 87, 2183 (1965).
- [20] *J. D. Connolly & R. McCrindle*, Chemistry and Ind. 1965, 379.
- [21] *D. H. Williams*, Tetrahedron Letters 1965, 2305.
- [22] *A. Rassat, C. W. Jefford, J. M. Lehn & B. Waegell*, Tetrahedron Letters 1964, 233.

139. Über Pterinchemie

32. Mitteilung [1]

Synthese des natürlichen D-Neopterins und L-Monapterins¹⁾

von **M. Viscontini, R. Provenzale, S. Ohlgart** und **J. Mallevalle**

Organisch-chemisches Institut der Universität
Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich

(20. V. 70)

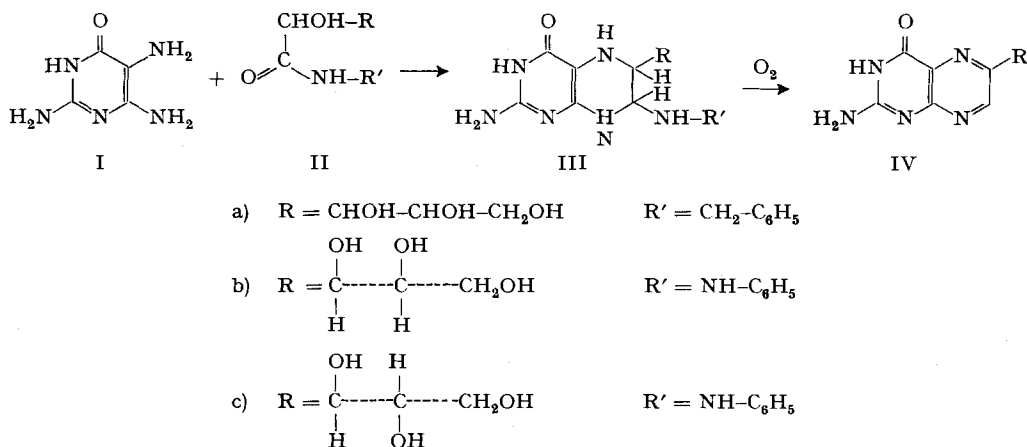
Zusammenfassung. Bei der Kondensation von 2, 4, 5-Triamino-6-oxo-1, 6-dihydropyrimidin mit dem Phenylhydrazon der D-Arabinose bzw. L-Xylose im wässrigen Methanol unter N₂ und anschließender Oxydation der Kondensationsprodukte werden D-Neopterin bzw. L-Monapterin gebildet. Nach Reinigung und Umkristallisation aus Wasser werden beide Substanzen als farblose Kristalle in sehr hoher Ausbeute erhalten.

Bei der Beschreibung der Synthese von 6-(Polyhydroxyalkyl)-pterinen durch Kondensation von 1-Amino-2-ketopentosen (IIa) mit dem Pyrimidin I erwähnten wir in der 26. Mitteilung [2], dass die Aminoketosen (IIa) vorteilhaft durch Phenylhydrazinoketosen (IIb und c) ersetzt werden könnten. Hier beschreiben wir diese Methode, die Neopterin und Monapterin sehr rein und in hohen Ausbeuten liefert.

Das Prinzip der Synthese bleibt unverändert; man stellt das Hydrazon einer Aldopentose her, lagert dies in eine Hydrazinoketose nach *Amadori* um und kondensiert letztere mit dem Pyrimidin I zu einem Tetrahydropterin III, welches anschliessend zum Pterin IV oxydiert wird. D-Arabinose und L-Xylose werden zum Beispiel als Ausgangsmaterial für die Herstellung von D-Neopterin bzw. L-Monapterin verwendet. Ihre Phenylhydrazone sind in der Literatur nur kurz erwähnt [3] [4]; wir haben deshalb im experimentellen Teil dieser Arbeit eine Herstellungsmethode beider Substanzen und ihrer Enantiomeren genau angegeben.

Überraschenderweise, und im Gegensatz zu allen bis jetzt von uns studierten Beispielen, lassen sich nach der *Amadori*-Umlagerung die entsprechenden Phenylhydra-

¹⁾ Schweiz. Patent-Anmeldung Nr. 4979/67 vom 7.4.1967.



zinoketoson IIb und c nicht isolieren. Dies bewirkt jedoch keine Schwierigkeit, da die Phenylhydrazone selbst für die Kondensation verwendet werden können und die Umlagerung zu Phenylhydrazinoketoson in der sauren Reaktionslösung stattfindet. Die anschließende Kondensation der 2. Ketogruppe von IIb und c mit der basischen 5-Aminogruppe des Pyrimidins I unter Ringschluss liefert dann direkt mit hohen Ausbeuten die 6-substituierten, isomerenfreien Tetrahydropterine III. Kondensation, Oxydation III \rightarrow IV und alle Reinigungsoperationen werden vorzugsweise im Dunkeln durchgeführt. Der Ausschluss von Sauerstoff sowie die Zugabe eines Antioxydants sind bei der Kondensation wichtig. Beide auf diese Weise erhaltenen reinen Pterine sind einander sehr ähnlich und unterscheiden sich deutlich nur in ihrer spezifischen optischen Drehung und in ihren NMR.-Spektren. Die Gefahr einer Verwechslung beider Substanzen bei ihrer Isolierung als Naturstoffe ist deshalb sehr gross.

Wir danken Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn für die NMR.-Spektrenaufnahme und Herrn H. Frohofer für die Elementaranalysen, die optischen Messungen und die IR.-Spektrenaufnahme. - Der Aufenthalt von Herrn J. Mallevalle in Zürich wurde durch ein Stipendium des Institut Océanographique, Paris, ermöglicht; die Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds unterstützt.

Experimentelles. - *Phenylhydrazon der D-Arabinose.* 2 g (13,3 mMol) D-Arabinose werden unter Erwärmen in 2 ml Wasser gelöst. Die erkaltete Lösung wird mit 1,8 g (16,6 mMol) Phenylhydrazin und einem Tropfen Eisessig versetzt. Der Zusatz von Eisessig als Katalysator ist für einen guten Verlauf der Reaktion unentbehrlich. Nach einigen Stunden erstarrt die Mischung. Sie wird in wenig warmem Äthanol gelöst und die Lösung mit Äther bis zur Trübung versetzt. Nach einigen Stunden wird das kristallisierte Phenylhydrazon abfiltriert und getrocknet: 2,3 g (72% d. Th.). Nach Umkristallisation aus warmem Äthanol, Smp. 147-148°. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -9^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,5$ in Äthanol). Elementaranalyse s. unten.

Phenylhydrazon der L-Arabinose. Nach dem gleichen Verfahren hergestellt (70%), Smp. 149 bis 150° (Literatur [3]: 150°). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,5$ in Äthanol) (Literatur [5]: +2,5°). Elementaranalyse s. unten.

Phenylhydrazon der L-Xylose. 1 g (6,6 mMol) L-Xylose wird unter Erwärmen in 0,7 ml Wasser gelöst. Die erkaltete Lösung wird mit 0,720 g (6,6 mMol) Phenylhydrazin versetzt und 15 Std. unter Stickstoff stehengelassen. Nach Verdünnen der dickflüssigen Masse mit wenig wasserfreiem Tetrahydrofuran wird Äther bis zur Fällung zugesetzt. Die Lösung wird von der klebrigen Fällung abdekantiert, die Fällung nochmals mit absolutem Tetrahydrofuran verdünnt und daraufhin mit

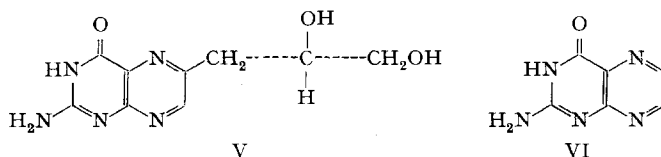
einem Tropfen Eisessig und Äther bis zur Fällung versetzt. Die klebrige Masse wird mehrmals mit Äther gewaschen. Das Phenylhydrazon kristallisiert durch Kratzen oder, leichter, durch Animpfen: 0,9 g (56%) leicht gelbliche Kristalle, die man, ihrer hohen Löslichkeit wegen, nur sehr mühsam aus Tetrahydrofuran-Cyclohexan umkristallisieren kann. Smp. 109–110°. $[\alpha]_D^{25} = +1,5^\circ \pm 2^\circ$, $c = 0,5$ (Äthanol). Elementaranalyse s. unten.

Phenylhydrazon der D-Xylose: Nach dem gleichen Verfahren hergestellt (55%). Umkristallisation ist in diesem Fall unmöglich. Smp. 110–111°. $[\alpha]_D^{25} = -7^\circ \pm 2^\circ$, $c = 0,5$ (Äthanol). Elementaranalyse:

$C_{11}H_{16}N_2O_4$ (240)	C 54,99	H 6,71	N 11,66%
D-Arabinosephenylhydrazon	„ 55,21	„ 6,90	„ 11,96%
L-Arabinosephenylhydrazon	„ 54,21	„ 6,62	„ 11,27%
L-Xylosephenylhydrazon	„ 54,94	„ 6,61	„ 11,79%
D-Xylosephenylhydrazon	„ 54,59	„ 6,64	„ 12,46%

D-Neopterin. 3 g (14 mMol) 2,4,5-Triamino-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-dihydrochlorid (I), 3,96 g (15 mMol) D-Arabinosephenylhydrazon und zwei Tropfen 2-Thio-äthanol werden in 700 ml mit Stickstoff gesättigtem, wässrigem Methanol (1:1) unter Rückfluss und Durchleiten von sauerstofffreiem Stickstoff gekocht. Nach etwa 30 Min. liegt eine klare, rotbraune Lösung vor. Hierauf verfolgt man den Reaktionsverlauf dünn-schicht-chromatographisch (Cellulose; Butanol/Eisessig/Wasser, 20:3:7). Wenn kein I mehr festzustellen ist (nach ca. 2 Std.), kocht man das Gemisch noch $\frac{1}{2}$ Std. weiter und dampft dann im Rotationsverdampfer ein. Der Rückstand wird mit 700 ml Wasser versetzt und mit 5-proz. $NaHCO_3$ -Lösung auf pH 7 gebracht. Durch die neutrale Lösung, welche das 6-(D-erythro-1',2',3'-Trihydroxypropyl)-7-(N-1-phenylhydrazino)-5,6,7,8-tetrahydropterin (IIIb) enthält, leitet man während 12 Std. Sauerstoff, wobei ein Teil des entstandenen D-Neopterin (IVb) ausfällt. Hierauf wird mit Essigsäure auf pH 4–5 gebracht, das Gemisch auf 50 ml eingengt und mit Aceton versetzt. Das ausgefallene, rohe D-Neopterin wird abzentrifugiert, je dreimal mit 20 ml Eiswasser, 50 ml Äthanol, 50 ml Aceton und 50 ml Äther gewaschen, und getrocknet. Man erhält 3 g (85%) eines noch unreinen hellgelben Produktes, das dünn-schicht-chromatographisch (Butanol/Eisessig/Wasser, 20:3:7) mehrere fluoreszierende Flecke zeigt, jedoch mit $KMnO_4$ ausschliesslich 6-Pterincarbonsäure liefert.

Zur Abtrennung der Nebenprodukte 6-(2',3'-Dihydroxypropyl)-pterin (V) und Pterin (VI) [2]



wird 1 g des obigen Produktes über eine mit DOWEX 1 × 8 (H-COO⁻) beschickte Ionenaustauschersäule (9 × 8 cm) chromatographiert, wobei man mit 0,03M Ammoniumformiatpuffer vom pH 8, dann pH 7,2 eluiert. Auf der Säule zeichnen sich 3 fluoreszierende Banden ab; die zweite entspricht dem D-Neopterin. Nach Filtrieren des Eluates (10 l), Eindampfen, Versetzen des Rückstandes (Neopterin + Ammoniumformiat) mit Äthanol und 24-stündigem Stehen erhält man 750 mg reines D-Neopterin. Aus den 3 g Rohprodukt erhält man so 2,25 g (64%) Neopterin. Umkristallisation aus Wasser. $[\alpha]_D^{25} = +50,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,3$ in 0,1N HCl).

$C_9H_{11}N_5O_4$ (253,22) Ber. C 42,69 H 4,38 N 27,66% Gef. C 42,91 H 4,78 N 27,87%

Das UV.-Spektrum (Fig. 1) entspricht sehr genau jenem eines 6-alkylierten Pterins. Wir geben das IR.-Spektrum (Fig. 2) wieder, da in der 26. Mitteilung [2] die IR.-Spektrn des L-Neopterin und des Monapterin aus Versehen vertauscht wurden. Sie sind ohnehin fast identisch und eher schwierig voneinander zu unterscheiden. Signale¹⁾ im NMR.-Spektrum des D-Neopterin (in Trifluoressigsäure; Fig. 3): C(3')H₂ und C(2')H: M, 4,25–4,60–4,83 ppm, 3 Pr.; C(1')H: D, 5,55 ppm, $J_{1',2'} = 2$ Hz; 1 Pr.; N(2')H₂: br. S, 8,68 ppm; 2 Pr.; C(7)H: S, 9,20 ppm, 1 Pr. Löslichkeit: 46,9 mg in 100 ml Wasser, 20°.

¹⁾ S = Singulett, D = Dublett, M = Multiplett, br. = breit, Pr. = Proton(en).

L-Monapterin. 3 g (14 mMol) 2,4,5-Triamino-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-dihydrochlorid (I) und 3,96 g (15 mMol) *L*-Xylose-phenylhydrazon werden unter den für die *D*-Neopterin-Synthese angegebenen Bedingungen kondensiert, oxydiert und aufgearbeitet. Ausbeute: 2,55 g (72%) Rohprodukt; nach der Chromatographie mit DOWEX 1×8 (HCOO⁻): 2 g (57%). Umkristallisation

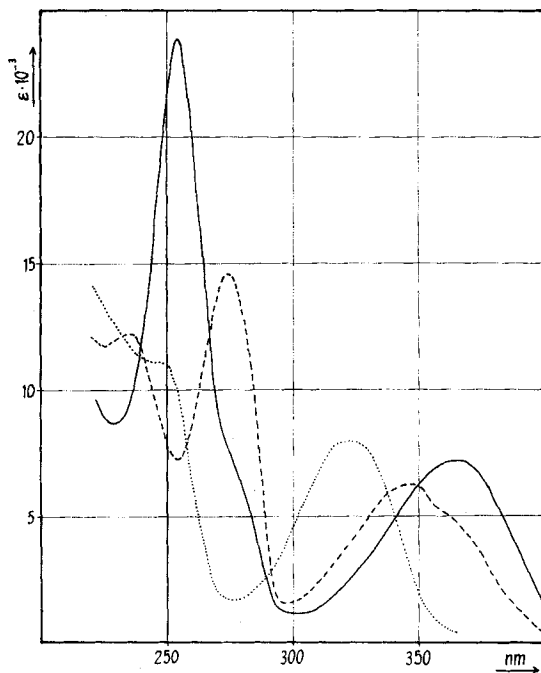


Fig. 1. UV.-Spektrum des *D*-Neopterins

..... 0,1N HCl; ----- Wasser; ——— 0,1N NaOH

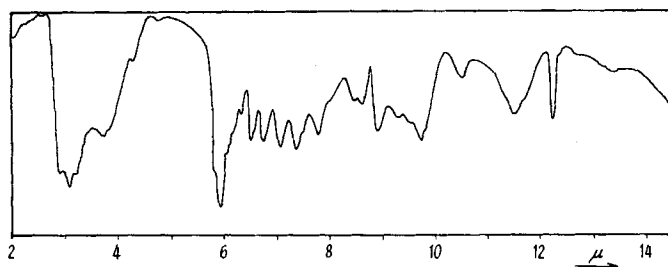


Fig. 2. IR.-Spektrum des *D*-Neopterins in KBr aufgenommen

aus Wasser. $[\alpha]_D^{25} = +113^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,33$ in 0,1N HCl). Das UV.-Spektrum ist mit jenem des *D*-Neopterins identisch; IR.-Spektrum s. Fig. 4. Signale¹⁾ im NMR.-Spektrum (in Trifluoressigsäure; Fig. 5): C(3')H₂ und C(2')H: *M*, 4,25–4,50–4,80 ppm, 3 Pr.; C(1')H: *D*, 5,45 ppm, $J_{1',2'} = 6$ Hz, 1 Pr.; N(2')H₂: *br. S*, 8,68 ppm, 2 Pr.; C(7)H: *S*, 9,16 ppm, 1 Pr. Löslichkeit: 90 mg in 100 ml Wasser, 20°.

C₉H₁₁N₅O₄ (253,22) Ber. C 42,69 H 4,38 N 27,66% Gef. C 42,45 H 4,65 N 27,41%

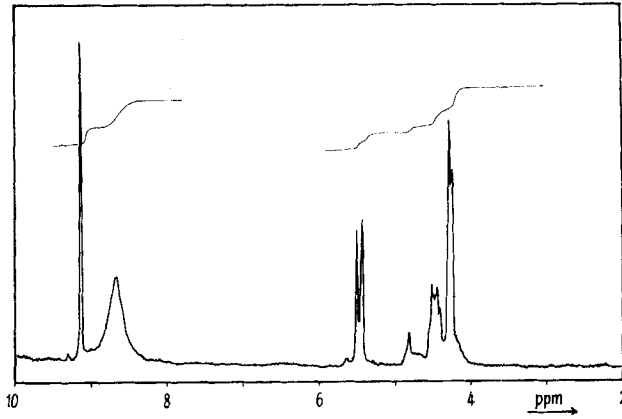


Fig. 3. NMR.-Spektrum des D-Neopterin in CF_3COOH aufgenommen
Tetramethylsilan als interner Standard

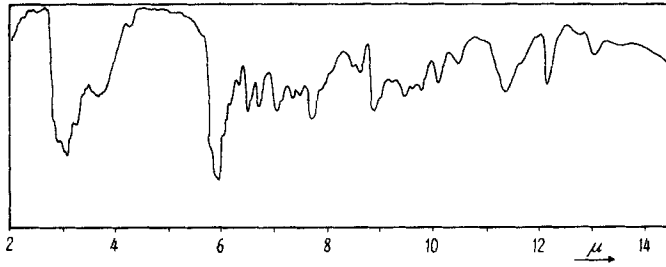


Fig. 4c. IR.-Spektrum des L-Monapterin in KBr aufgenommen

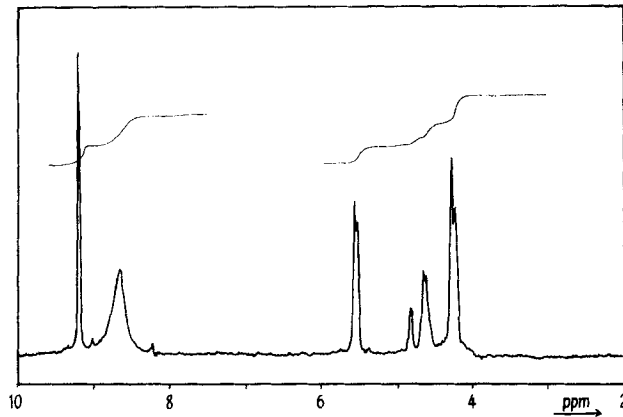


Fig. 5. NMR.-Spektrum des L-Monapterin in CF_3COOH aufgenommen
Tetramethylsilan als interner Standard

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 31. Mitteilung: *M. Viscontini & G. Mattern*, *Helv.* 53, 832 (1970).
[2] *M. Viscontini & R. Provenzale*, *Helv.* 51, 1495 (1968).
[3] *G. Chavanne*, C. r. Séances hebd. Acad. Sci. 734, 661 (1902).
[4] *A. Van der Haar*, «Anleitung zum Nachweis, Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren», Gebrüder Bornträger, Berlin 1908-1909.
[5] *C. Tanret*, *Bull. Soc. chim. France* 1902, 395.

140. Pigmente von Nereiden (*Annelida*, *Polychaeten*)

1., vorläufige Mitteilung¹⁾

Isolierung von Pterindimeren aus den Augen von *Platynereis dumerilii* (Audouin & Milne Edwards) 1833

von **M. Viscontini** und **W. Hummel**

Organisch-chemisches Institut der Universität, CH-8001 Zürich, Rämistrasse 76

und **A. Fischer**

Zoologisches Institut der Universität, D-5 Köln-Lindenthal, Weyertal 119

(22. V. 70)

Zusammenfassung. Aus den Augen von *Platynereis dumerilii* wurden Neopterin und die in ihrer Struktur noch nicht vollständig aufgeklärten neuen Pterine Platynerepterin und Nerepterin isoliert. Diese zwei dunkelgelb und dunkel-blauviolett gefärbten Pterine besitzen UV.-Spektren, die demjenigen des Pterorhodins ähnlich sind. Ihren Eigenschaften nach sind sie sehr wahrscheinlich hydroxylierte Pterindimere. Somit wird bestätigt, dass Pterindimere in der Natur viel weiter verbreitet sind, als man hätte annehmen können. Beide Pigmente kommen ebenfalls bei anderen Nereiden als Augenzpigmente vor.

Viele Arten der Meeresborstenwürmer (*Polychaeten*) sind auffällig gefärbt; dementsprechend wurde die chemische Natur ihrer Pigmente verschiedentlich untersucht (s. [2]). Die *Augenzpigmente* von *Polychaeten* sind bislang jedoch noch nie chemisch untersucht worden. Diese Substanzen, welche als Pigmentbecher das Auge der *Polychaeten* äusserlich sichtbar machen, schirmen das Augeninnere optisch weitgehend ab und ermöglichen dadurch das Richtungssehen. Bei einer Mutante von *Platynereis dumerilii* fehlen diese Pigmente fast völlig [3]. Die Verwendung dieser Mutante ermöglicht Beobachtungen darüber, wie sich Genwirkungen vom mütterlichen Genom in der Entwicklung der Nachkommen auswirken können. In diesem Zusammenhang und aus biochemischem Interesse untersuchten wir die Augenfarbstoffe von *Platynereis dumerilii* und konnten sie als Pterine identifizieren. Pterine sind als Augenzpigmente bei Arthropoden wohlbekannt und gut untersucht [4] [5], sind aber bisher weder bei *Polychaeten* noch bei anderen *Anneliden* nachgewiesen worden [2] [4].

Als Ausgangsmaterial verwendeten wir ca. 1000 geschlechtsreife Exemplare von *Platynereis dumerilii*. Die Würmer wurden bis zur Extraktion teils tiefgekühlt, teils in Methanol aufbewahrt. Ihre Köpfe wurden mit etwas Cellulosepulver und Äthanol

¹⁾ Erstmals vorgetragen von *A. Fischer* am 8.12.69 in Braunschweig, s. [1].