

Le composé représente l'*acide méthoxy-2-muconique trans-trans (XVIIb)*, car par méthylation au moyen de diazométhane en solution étherée, il se convertit en ester méthoxy-2-muconique XVIIIa identifié par son F. et F. de mélange de 54–55° et par son spectre IR.

Oxydation permanganique de XVIIa. 60 mg d'ester XVIIa dissous dans 1 ml d'acétone sont oxydés à 0–2° par addition goutte à goutte, sous forte agitation, d'une solution de 90 mg de KMnO_4 et de 9 mg de K_2CO_3 dans 2 ml d'eau. On ajuste le pH à 2,5 au moyen d'acide acétique et élimine par centrifugation le bioxyde de manganèse. Le liquide est neutralisé par NaOH; on concentre à 2 ml, ajoute 9 ml NaOH 0,1 N et chauffe 1 h à 85°. Après passage sur 3 g de Dowex 50 (forme H^+) on évapore à sec, reprend par 20 ml d'eau et traite à l'ébullition par du CaCO_3 en excès. On filtre, évapore à sec, et obtient ainsi un résidu de 53 mg de sels calciques qu'on traite par du Dowex 50 (H^+). Les acides libres sont estérifiés par du diazométhane en solution étherée. Le sirop (35 mg) est traité ensuite durant une semaine à +4° par du méthanol saturé de gaz ammoniac. Les cristaux déposés fondent à 177–178° après recristallisation dans le méthanol. Par son F. et par son spectre IR. le produit est identique au *L-méthoxysuccinamide (diamide de l'acide O-méthyl-D-malique, XVI)* [21].

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. Gabbai, A. Melera, D. Janjic & Th. Posternak, *Helv.* 49, 168 (1966).
- [2] R. Kuhn, H. Trischmann & I. Löw, *Angew. Chem.* 67, 32 (1955).
- [3] W. E. Matter, C. Pascual, E. Pretsch, W. Simon & S. Sternhell, *Tetrahedron* 25, 691, 2023 (1969).
- [4] J. N. Shoolery, *Techn. int. Bull. Varian Assoc., Palo Alto (Calif.)* 2, 3 (1963); D. W. Matieson, «NMR. for Organic Chemists», p. 179, Acad. Press, New York 1967.
- [5] N. S. Bhacca & D. H. Williams, «Application of NMR. Spectroscopy in Organic Chemistry», p. 185, Holden Day, San Francisco 1964.
- [6] A. R. Kaufmann, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 75, 1201 (1942).
- [7] R. Breslow, *Tetrahedron Letters* 1964, 399; D. J. McLennan, *Quart. Rev.* 21, 490 (1967).
- [8] F. G. Bordwell, M. M. Vestling & K. C. Yee, *J. Amer. chem. Soc.* 92, 5950 (1970).
- [9] F. T. Weiss & M. A. Muhs, *J. Amer. chem. Soc.* 84, 4697 (1962).
- [10] F. Smith, *J. chem. Soc.* 1944, 510.
- [11] Th. Schmidt & H. Kraft, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 74, 33 (1941).
- [12] C. H. De Puy, G. F. Morris, J. S. Smith & R. J. Smat, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 2421 (1965).
- [13] R. P. Lindstead, L. N. Owen & R. F. Webb, *J. chem. Soc.* 1953, 1225.
- [14] E. Fischer & A. Speier, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 28, 3255 (1895).
- [15] E. Fischer, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 24, 2141 (1891).
- [16] H. Wren & K. Hughes, *J. chem. Soc.* 725, 1742 (1924).
- [17] Th. Posternak, *Helv.* 29, 1997 (1946); S. Posternak & Th. Posternak, *Helv.* 12, 1165 (1929).
- [18] W. N. Haworth, E. L. Hirst & A. Learner, *J. chem. Soc.* 1927, 1048.
- [19] Th. Posternak, *Helv.* 18, 1283 (1935); J. W. Cook & R. Schoental, *J. chem. Soc.* 1950, 47.
- [20] J. V. Nef, *Liebigs Ann. Chem.* 376, 83 (1910); Th. Posternak, *Helv.* 15, 953 (1932).
- [21] Th. Purdie & G. B. Neave, *J. chem. Soc.* 97, 1519 (1910).

163. Protonierung von Purin, Adenin und Guanin

NMR.-Spektren und Strukturen der Mono-, Di- und Tri-Kationen¹⁾

von R. Wagner und W. von Philipsborn

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

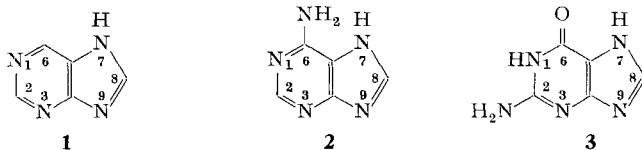
(27. V. 71)

Summary. Proton NMR. spectra of purine, adenine, guanine and methylsubstituted guanines have been measured in CF_3COOH , FSO_3H and $\text{FSO}_3\text{H}-\text{SbF}_5-\text{SO}_2$ at 27° and low temperatures. These conditions permit to study multiple protonation of purines, using chemical shifts of CH, NH and OH protons. The spectra of mono-, di- and tri-cations are described and fully assigned.

¹⁾ Protonenresonanzspektren von Pteridinen und Purinen, VIII. Mitteilung; VII. Mitt. vgl. [1].

Die Protonenresonanzspektren von Purinen sind bereits mehrfach untersucht worden. Messungen in wässrigen Medien bei verschiedenen pH haben vor allem zu Aussagen über die Zuordnung der CH-Protonen sowie über den Ort der ersten Protonierung geführt [2a–g]. Die Ergebnisse dieser Arbeiten sind ferner für die NMR.-Untersuchungen an Nucleosiden, Nucleotiden und Nucleinsäuren von Bedeutung [3a, b].

Messungen in wässrigen Säuren haben den Nachteil, dass an Stickstoff und Sauerstoff gebundene Protonen infolge raschen Austauschs in der Regel nicht erfasst werden können, so dass der Informationsgehalt solcher Spektren begrenzt ist. Dies behindert Aussagen über das Ausmass und den Ort der Protonierung. Die Verwendung einer Serie von nichtwässrigen Säuresystemen steigender Acidität, sowie Messungen bei tiefen Temperaturen ermöglichten uns, die stufenweise Protonierung von Amino- und Hydroxy-Pyrimidinen anhand der Resonanzen von CH-, OH- und NH-Protonen im einzelnen aufzuklären [1]. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Protonenresonanzspektren von Purin (1), Adenin (2), Guanin (3) und Methylguaninen, welche in den Lösungsmitteln CF_3COOH , $\text{CF}_3\text{COOH-SO}_2$, FSO_3H und $\text{FSO}_3\text{H-SbF}_5\text{-SO}_2$ bei 27° , -20° und -55°C gemessen wurden.



1. Purin (1). – Die Spektren von Purin in den vier Lösungsmitteln sind in Fig. 1 abgebildet und die chemischen Verschiebungen in der Tabelle aufgeführt. In CF_3COOH , bei 27° und -55° , treten nur die Signale der drei Vinylprotonen in Erscheinung. Zwei dieser Signale zeigen Dublettstruktur ($J \approx 1$ Hz), so dass sie den Protonen an C(2) und C(6) zugeordnet werden können [2f] (Fig. 1a). Die Zuordnung der Signale ($\delta_{\text{HC}(6)} > \delta_{\text{HC}(2)} > \delta_{\text{HC}(8)}$) des in wässriger Säure protonierten Purins stützt sich ferner auf deren Unterscheidung durch gezielte Deuterierungsexperimente [2b, c, e]. In FSO_3H überlagern sich die drei Vinylresonanzen und bei tiefem Feld tritt eine breite NH-Absorption auf, welche bei -55° in drei diskrete Signale aufgelöst wird (Fig. 1b). Im Lösungsmittelgemisch $\text{FSO}_3\text{H-SbF}_5\text{-SO}_2$ mit einem molaren Verhältnis von $\text{FSO}_3\text{H}:\text{SbF}_5 = 5:1$ [1] erhält man praktisch die gleichen Spektren, wobei jedoch die bessere Auflösung der Vinylregion Doppelresonanzexperimente an Vinyl- und NH-Protonen zulässt (Fig. 1c). Einstrahlung bei 12,9 ppm eliminiert eine kleine Kopplung (ca. 3 Hz) aus dem Vinylmultiplett, während Bestrahlung des breiten Signals bei 13,7 ppm keinen Einfluss hat. Bei einem Molverhältnis $\text{FSO}_3\text{H}:\text{SbF}_5 = 1:1$ (im folgenden 1:1-Gemisch genannt) erfahren alle Protonensignale eine deutliche Verschiebung nach tieferen Feldstärken (Fig. 1d–f). Das Vinylsignal bei 10,56 ppm erscheint bei 27° als Dublett ($J = 3,0$ Hz) und bei -20° als Triplett ($\bar{J} = 2,6$ Hz). Diese Multiplette werden durch Einstrahlung bei 13,7 ppm bzw. 13,75 ppm entkoppelt. Das Spektrum bei -20° (Fig. 1e) zeigt ferner zwei Dublette mit $J = 4,6$ Hz bzw. 7,0 Hz, welche durch Einstrahlung bei 14,65 ppm zu je einem Singulett vereinfacht werden. Das Vinyl-Triplett mit der kleinen Kopplungskonstante (2,6 Hz) muss H–C(8) und die Resonanz bei 13,75 ppm den beiden Protonen an N(7) und N(9) zugeordnet werden.

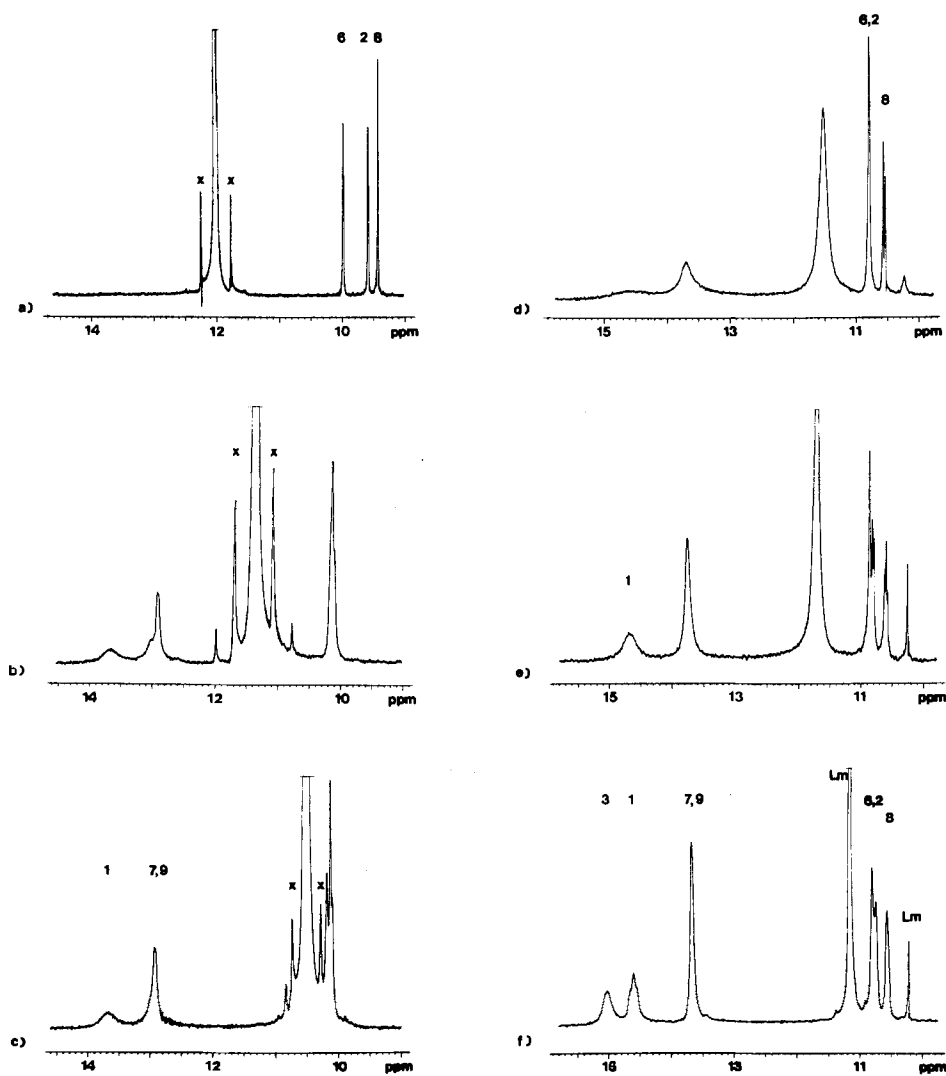
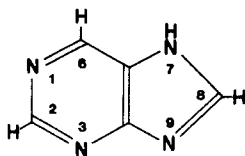


Fig. 1. NMR.-Spektren von Purin (1) in: a) CF_3COOH , 27° ; b) FSO_3H , -55° ; c) $FSO_3H-SbF_5-SO_2$ (5:1), -55° ; d), e), f) $FSO_3H-SbF_5-SO_2$ (1:1), 27° , -20° , -55°

X Bezeichnet Rotationsseitenbanden des Lösungsmittelsignals. Die Ziffern über den Signalen bezeichnen die Stellung der Protonen am Puringerüst. Lm = Signale des Lösungsmittels.

Substanz	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Konz. [$\frac{\text{Mol}}{\text{l}}$]	Chemische Verschiebungen δ [ppm]		
				H-C		
				2	6	8
Purin (1)	CF ₃ COOH	27	0,4	9,57 ^{Da)}	9,96 ^D	9,42
	CF ₃ COOH-SO ₂	-55	0,4	9,85	10,16	9,75
	FSO ₃ H	27	0,4	9,99	9,99	9,90
		-55	0,4	10,11	10,11	10,11
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (5:1)	27	0,4	9,95	9,95	9,83
		-55	0,4	10,12	10,18	10,10 ^T
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,5	10,81	10,81	10,56 ^D
		-20	0,5	10,82 ^D	10,83 ^D	10,59 ^T
		-55	0,5	10,78 ^T	10,78 ^D	10,57
Adenin (2)	D ₂ O	27	0,05	8,62		8,57
	CF ₃ SOCD ₃	27	0,12	8,12		8,10
	CF ₃ COOH	27	0,5	8,88		9,30
	CF ₃ COOH-SO ₂	-55	0,5	8,97		9,48
	FSO ₃ H	27	0,5	9,88		9,79
		-20	0,5	9,82		9,73 ^T
		-55	0,5	9,75 ^M		9,75 ^M
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,5	9,96 ^T		9,93 ^T
		-20	0,5	9,98 ^T		9,94 ^T
	-55	0,5	9,96 ^M		9,93 ^M	
Guanin (3)	CF ₃ COOH	27	0,19			8,98
	CF ₃ COOH-SO ₂	-55	0,16			9,07
	FSO ₃ H	27	0,5			9,20 ^D
		-55	0,5			9,34 ^{T^{d)}}
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (2:1)	27	0,5			A 9,65 ^{T^{b)}}
		-55	0,5			B 9,49 ^T
						A 9,64
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,5			B 9,49
		-20	0,5			A 9,64 ^T
	-55	0,5			B 9,46 ^T	
					A 9,66 ^T	
					B 9,49 ^T	
					A 9,61	
					B 9,44	
1-Methylguanin	CF ₃ COOH	27	0,15			8,97
	CF ₃ COOH-SO ₂	-55	0,15			9,09
	FSO ₃ H ^{e)}	27	0,15			9,13 ^T
		-55	0,15			9,30
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,15			A 9,72 ^T
		-20	0,15			B 9,50 ^T
		-55	0,15			A 9,69 ^T
					A 9,69	

bungen von Purinen

H-N					H-O	H ₃ C-N			
1 ^{h)}	3	7 ^{h)}	9	-NH ₂	6	1	7	8	9
			12,5						
13,65		12,90	; 13,0						
			12,5						
13,7		12,93	; 12,95						
14,6			13,7						
14,65		13,75	; 13,75						
14,62 _T	15,03	13,68	; 13,68						
			12,8	7,10; 7,10					
				9,08; 9,90					
				9,65; 10,34					
			13,1	9,52; 9,9					
		12,93	; 12,93	9,42; 9,8					
12,35	13,15	12,83	; 12,83	9,37; 9,8					
12,44	13,20	12,80	; 12,88	9,48; 9,55					
12,40 _D	13,20 _D	12,77	; 12,89	9,49; 9,61					
12,32 _D	13,14 _D	12,72	; 12,87	9,48; 9,66					
				8,0 ; 8,0					
		13,5		8,64; 8,71					
		12,44	12,02	7,8 ; 7,8					
11,06 ; 11,1		12,42	12,14	8,09; 8,22					
A 11,65 ; 11,65	A 12,63	A 12,44	A 8,47; 8,52						
B 11,31 ; 11,31	B 12,63	B 12,22	B 8,31; 8,31						
A 11,48 ; 11,61	A 12,48	A 12,36	A 8,5 ; 8,5						
B 11,19 ; 11,25	B 12,62	B 12,17	B 8,4 ; 8,4						
A 11,52 ; 11,52	A 12,5	A 12,40	A 8,48; 8,48						
B 11,12 ; 11,26	B 12,57	B 12,12	B 8,25; 8,25						
A 11,47 ; 11,57	A 12,53	A 12,40	A 8,50; 8,54						
B † ^{e)} ; †	B 12,6	B 12,15	B 8,30; 8,35						
A 11,36 ; 11,54	A 12,43	A 12,34	A 8,50; 8,50	A 13,47					
B † ; †	B 12,57	B 12,10	B 8,35; 8,35						
				7,8 ; 7,8		3,78			
		13,55		7,62; 9,27		3,82			
		12,32	11,86	7,67; 7,67		3,95			
		12,35	12,08	8,03; 8,24		4,10			
	A 12,46	A 12,34	A 8,6 ; 8,6			A 4,47			
	B 12,7	B 12,2	B 8,25; 8,25			B 4,32			
A 11,60	A 12,45	A 12,30	A 8,58; 8,66			A 4,44			
A 11,56	A 12,44	A 12,26	A 8,6 ; 8,7	A 13,88		A 4,42			

Fortsetzung

Substanz	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Konz. [$\frac{\text{Mol}}{\text{l}}$]	Chemische Verschiebungen δ [ppm]		
				H-C		
				2	6	8
7-Methylguanin	CF ₃ COOH	27	0,15			8,79
	CF ₃ COOH-SO ₂	-55	0,15			8,87
	FSO ₃ H [§])	27	0,15			8,96 DQ
		-55	0,15			9,08
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,15			A 9,49 M
						B 9,33 M
		-20	0,15			A 9,44
		-55	0,15			A 9,42
9-Methylguanin	CH ₃ SOCH ₃	27	0,06			7,61
	CF ₃ COOH	27	0,15			8,88
	CF ₃ COOH-SO ₂	-55	0,15			8,88
	FSO ₃ H [§])	27	0,15			9,08 D
		-55	0,15			9,26
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,15			A 9,56 D
						B 9,36 D
		-20	0,15			A 9,55 D
	-55	0,15			B 9,37 D	
					A 9,54 D	
					B 9,37 D	
1,7-Dimethylguanin	CD ₃ SOCD ₃	27	0,1			7,84
	CF ₃ COOH	27	0,14			8,83
	FSO ₃ H [§])	27	0,14			8,92
		-55	0,14			8,95
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,14			A 9,43 DQ
		-20	0,14			A 9,42
	-55	0,14			A 9,42	
1,9-Dimethylguanin	CD ₃ SOCD ₃	27	0,06			7,63
	CF ₃ COOH	27	0,14			8,89
	CF ₃ COOH-SO ₂	-35	0,14			8,85
	FSO ₃ H [§])	27	0,14			9,07 D
		-55	0,14			9,28
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,14			A 9,58 D
						B 9,37 D
	-20	0,14			A 9,57 D	
	-55	0,14			A 9,55	
7,9-Dimethylguaniniumchlorid	CF ₃ COOH	27	0,14			8,75
	FSO ₃ H [§])	27	0,14			8,82
		-55	0,14			8,94
	FSO ₃ H-SbF ₅ -SO ₂ (1:1)	27	0,14			A 9,31
						B 9,14
	-55	0,14			A 9,28	
					B 9,15	

H-N					H-O	H ₃ C-N			
1	3	7	9	-NH ₂	6	1	7	8	9
				7,9 ; 7,9			4,30		
				8,14 ; 8,76			4,33		
			11,62	7,65 ; 7,65			4,51 <i>D</i>		
	10,56		11,68	7,95 ; 7,95			4,48		
A † ;	11,50		A 12,18	A 8,58 ; 8,58			A 4,72 <i>D</i>		
B 11,08 ;	†		B †	B 8,28 ; 8,5			B 4,67		
A 11,13 ;	11,37		A 12,11	A 8,51 ; 8,57			A 4,68		
A 11,07 ;	11,31		A †	A 8,50 ; 8,58	A 13,51		A 4,65		
		10,44		6,41 ; 6,41					†
									4,04
	11,1	13,2		7,40 ; 8,60					4,13
		12,25							4,36
		12,28		8,0 ; 8,0					4,34
A 11,60 ;	11,82	A 12,44		A 8,44 ; 8,44					A 4,57
		B 12,3		B 8,1 ; 8,3					B 4,50
A 11,6 ;	11,86	A 12,38		A 8,42 ; 8,47					A 4,55
				B 8,1 ; 8,1					B 4,49
A 11,62 ;	†	A 12,35		A 8,4 ; 8,45	A 13,47				A 4,53
				B 8,1 ; 8,1					B 4,47
				6,63 ; 6,63		3,30	3,84		
				8,0 ; 8,0		3,71	4,34		
			11,52	7,54 ; 7,54		3,92	4,53		
	10,26		11,50	7,55 ; 7,77		3,91	4,48		
A 11,56		A 12,12		A 8,58 ; 8,58		A 4,39	A 4,71 <i>D</i>		
A 11,50		A 12,11		A 8,55 ; 8,63		A 4,37	A 4,68		
A 11,44		†		A 8,6 ; 8,65		A 4,34	A 4,65		
				6,97 ; 6,97		3,29			3,51
						3,75			4,07
		13,3 ^e)		6,9 ; 8,85		3,78			4,15
		12,20		7,65 ; 7,65		4,00			4,38
		12,28		8,04 ; 8,1		4,15			4,41
A 11,93	A 12,2			A 8,52 ; 8,52		A 4,46			A 4,61
B †	B			B 8,2 ; 8,2		B 4,32			B 4,54
A †	A 12,16			A 8,50 ; 8,57		A 4,42			A 4,57
A 12,0	A †			A 8,45 ; 8,6	A 13,81	A 4,40			A 4,56
				7,8 ; 7,8 ^f)			4,26		4,00
				7,6 ; 7,6			4,28		4,47
	11,5			7,95 ; 7,8			4,30		4,47
A 11,25				A 8,47 ; 8,47			A 4,69 <i>D</i>		A 4,53
B				B 8,1 ; 8,1			B 4,64		B 4,47
A 11,12				A 8,45 ; 8,51	A 13,49		A 4,65		A 4,49
B				B 8,2 ; 8,2			B 4,62		B 4,45

Substanz	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Konz. [$\frac{\text{Mol}}{1}$]	Chemische Verschiebungen δ [ppm]		
				H—C		
				2	6	8
8,9-Dimethyl- guanin	CF ₃ COOH	27	0,14			
	CF ₃ COOH—SO ₂	-55	0,14			
	FSO ₃ H ^{a)}	27	0,14			
		-55	0,14			
	FSO ₃ H—SbF ₅ —SO ₂ (1:1)	27	0,14			
		-20	0,14			
		-55	0,14			

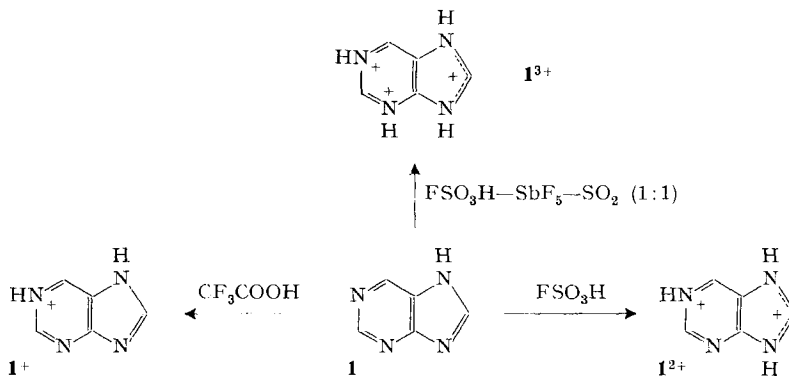
a) *D* = Dublett, *T* = Triplet, *DQ* = Dublett mit Quartett-Feinstruktur, *M* = Multiplett.

b) *A* und *B* vor den δ -Werten bezeichnen verschieden protonierte Spezies der jeweiligen Purine.

c) †: Diese Resonanzen sind vom Lösungsmittelsignal verdeckt.

d) Die Tripletstruktur wird bei +5° beobachtet.

Das Proton bei 14,65 ppm ist mit den beiden anderen Vinylprotonen gekoppelt und das Signal muss somit von H—N(1) stammen. Bei -55° (Fig. 1f) wird eine Verschärfung der NH-Absorptionen beobachtet und es tritt ein neues Signal bei 15,03 ppm auf, so dass insgesamt vier NH-Protonen nachzuweisen sind. Das Proton an N(1) (14,62 ppm) erscheint nun, wie zu erwarten, als Triplet und das neue NH-Signal ist H—N(3) zuzuschreiben, da durch Doppelresonanz eine Kopplung mit einem Proton im Bereich der Vinylprotonen des Pyrimidinrings (10,65–10,95 ppm) nachgewiesen wurde.



Die Strukturen²⁾ der in den verschiedenen Lösungsmitteln vorliegenden Kationen lassen sich am besten ausgehend von den Spektren im 1:1-Gemisch ableiten. In diesem Lösungsmittel werden vier NH-Resonanzen beobachtet, so dass das Purin als Trikation $\mathbf{1}^{3+}$ vorliegen muss. Die Verschiebung aller Signale nach höherem Feld

²⁾ Mit unserer Schreibweise machen wir keine Aussage über die Stellung des NH-Protons im unprotonierten Imidazolring der Purine.

-N					H-O	H ₃ C-N				
1	3	7	9	-NH ₂	6	1	7	8	9	
								2,90	3,92	
	11,1	13,15		7,55 ; 8,85				2,99	4,01	
		12,02						3,18	4,22	
	†	12,05		8,2 ; 8,2				3,35	4,32	
	A 11,68 ¹	A 12,08		A 8,37 ; 8,37				A 3,41	A 4,40	
	B	B		B				B 3,32	B 4,34	
11,45 ;	11,75	A 12,00		A 8,30 ; 8,38	A 13,1			A 3,39	A 4,37	
11,47 ;	11,74	A 11,93		A 8,30 ; 8,39	A 13,26			A 3,38	A 4,35	

-) Dieses Signal erscheint erst bei -50° .
 Dieses Signal erscheint erst bei -20° .
) Für die Messungen in diesem Lösungsmittel wurden die Trifluoracetate der Guanine eingesetzt.
) Durch Semikolon getrennte δ -Werte bedeuten, dass H-N(1) und H-N(3) bzw. H-N(7) und H-N(9) nicht unterschieden werden können.

beim Übergang zum 5:1-Gemisch zeigt, dass in diesem Lösungsmittel ein niedrigerer Protonierungszustand vorliegen muss, wobei die stärkere Verschiebung der Vinylprotonen des Pyrimidinrings nach höherem Feld sowie das Fehlen der H-N(3) Resonanz bei -55° auf einen an N(1) monoprotinierten Pyrimidinring hinweisen. In FSO_3H , in welchem die gleichen Spektren beobachtet werden, und im 5:1-Gemisch liegt Purin als Dikation 1^{2+} vor. Beim Übergang von FSO_3H zu CF_3COOH muss man den durch den Wechsel des Lösungsmittels und des Standards hervorgerufenen Effekt $\Delta_{\text{FSO}_3\text{H}}^{\text{CF}_3\text{COOH}} = -0,27$ ppm [4] berücksichtigen. Dann erfährt nur H-C(8) eine deutliche Verschiebung nach höherem Feld, welche darauf hinweist, dass Purin in CF_3COOH nur noch im Pyrimidinring protoniert ist und deshalb als Monokation 1^+ vorliegen muss. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Protonierungsstudien in wässrigen Mineralsäuren [2f,g] [5], in welchen unter vergleichbaren Aciditäten des Lösungsmittels ($\text{p}K_a(\text{CF}_3\text{COOH}) = 0,5$ [6]) auf eine Monoprotinierung an N(1) geschlossen wurde.

2. Adenin (2). – Das Spektrum von Adenin in CF_3COOH zeigt zwei Vinylsingulette sowie zwei NH-Signale. Die Verbindung ist bereits früher in verdünnter Schwefelsäure [2e] und Trifluoressigsäure [2f] vermessen worden. Die Zuordnung der Vinylsignale in diesen zwei Arbeiten ist widersprüchlich, stützt sich aber für die schwefelsäure Lösung auf selektive Deuterierungsexperimente an C(8). Auf Grund unserer Messungen der chemischen Verschiebungen in den vier Lösungsmitteln ergibt sich, dass H-C(8) in CF_3COOH bei tieferem Feld absorbiert als H-C(2) (Tabelle). In $\text{CF}_3\text{COOH}-\text{SO}_2$ bei -55° verschärfen sich die beiden NH-Signale (Fig. 2a), welche für die zwei nichtäquivalenten Protonen der Aminogruppe des Amidiniumsystems charakteristisch sind [1] [4]. In FSO_3H bei 27° wird ein ähnliches Spektrum beobachtet, in welchem jedoch alle Signale nach tieferem Feld verschoben sind (Tabelle), wodurch auch die relative chemische Verschiebung zwischen H-C(2) und H-C(8) wesentlich verkleinert wird. Zusätzlich tritt bei 13,1 ppm ein breites NH-Signal auf. Das Signal

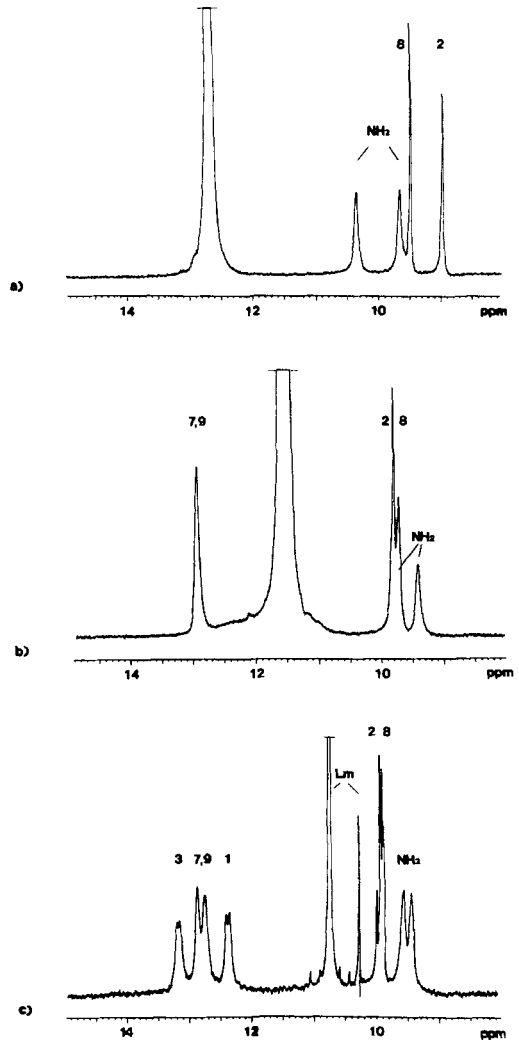
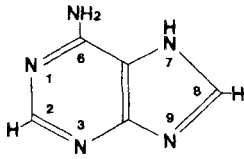
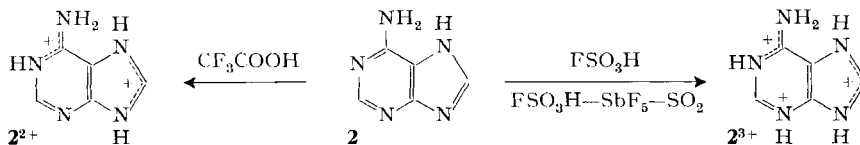


Fig. 2. NMR.-Spektren von Adenin (**2**) in: a) $CF_3COOH-SO_2$, -55° ; b) FSO_3H , -20° ;
c) $FSO_3H-SbF_5-SO_2$ (1:1), -20°

verschärft sich bei -20° (Fig. 2b), entspricht zwei Protonen, und diese zeigen eine kleine Spinkopplung ($J \approx 2$ Hz, Doppelresonanz) mit dem Vinylproton bei 9,73 ppm, dessen Signal in ein Triplet aufgespalten wird. Das Triplet muss somit H-C(8) und das NH-Signal den beiden Protonen an N(7) und N(9) zugeordnet werden. Bei -55° werden drei Absorptionen in dem Bereich von 12,0–13,4 ppm beobachtet, welche total vier NH-Protonen entsprechen. Das bei tiefem Feld liegende Signal (13,15 ppm) ordnen wir H-N(3), und die Resonanz bei 12,35 ppm H-N(1) zu. In $FSO_3H-SbF_5-SO_2$ erfährt das Spektrum keine wesentlichen Veränderungen mehr, bei tieferen Temperaturen können jedoch vier individuelle NH-Resonanzen und die vicinalen NH-CH-

Spinkopplungen im Pyrimidinring aufgelöst werden (Fig. 2c). Die Zuordnung der Signale in der Vinylregion erfolgte durch Entkopplung von den NH-Protonen.



Aus den Spektren von Adenin in FSO_3H und $\text{FSO}_3\text{H}-\text{SbF}_5-\text{SO}_2$ folgt, dass in diesen beiden Lösungsmitteln die Verbindung als Trikation 2^{3+} vorliegt, da die vier beobachteten NH-Signale eindeutig zugeordnet werden können. Beim Übergang von FSO_3H zu CF_3COOH erfahren die beiden Vinylprotonen sehr unterschiedliche Verschiebungen nach höherem Feld, welche unter Berücksichtigung des Lösungsmittel-effektes ($\Delta_{\text{FSO}_3\text{H}}^{\text{CF}_3\text{COOH}} = -0,27$ ppm) für H-C(2) $-0,73$ ppm und für H-C(8) $-0,22$ ppm betragen. Dies zeigt, dass in CF_3COOH ein tieferer Protonierungszustand vorliegt, und dass die Deprotonierung im Pyrimidinring erfolgen muss (2^{2+}). Die Zuordnung der Vinylsignale des Adenins in CF_3COOH stützt sich auf die Messung ihrer chemischen Verschiebungen in wässriger Lösung bei steigendem CF_3COOH -Gehalt. Wie in wässriger H_2SO_4 [2e] beobachtet man auch hier, dass sich die für die beiden Vinylprotonen erhaltenen Kurven überkreuzen, so dass das in D_2O bei tieferem Feld liegende Signal von H-C(2) [2e] in CF_3COOH bei höherem Feld erscheint. In D_2O werden die beiden Vinylresonanzen nochmals nach höherem Feld verschoben (Tabelle). H-C(2): $-0,56$ ppm, H-C(8): $-1,03$ ppm ($\Delta_{\text{CF}_3\text{COOH}}^{\text{H}_2\text{O}} = +0,30$ ppm [1] berücksichtigt). Diese

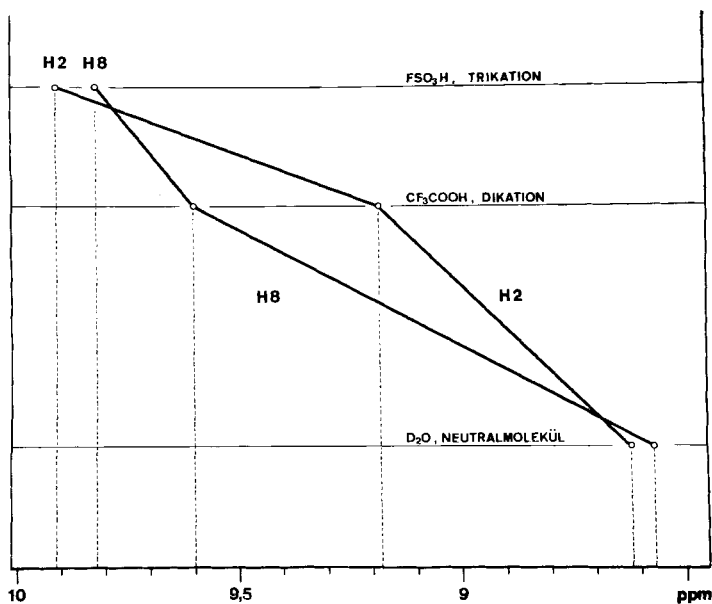


Fig. 3. Änderungen der chemischen Verschiebungen von H-C(2) und H-C(8) des Adenins in Lösungsmitteln verschiedener Säurestärke, schematische Darstellung

Für Lösungsmittelleffekte und verschiedene Standardisierung wurde unter Bezug auf D_2O korrigiert

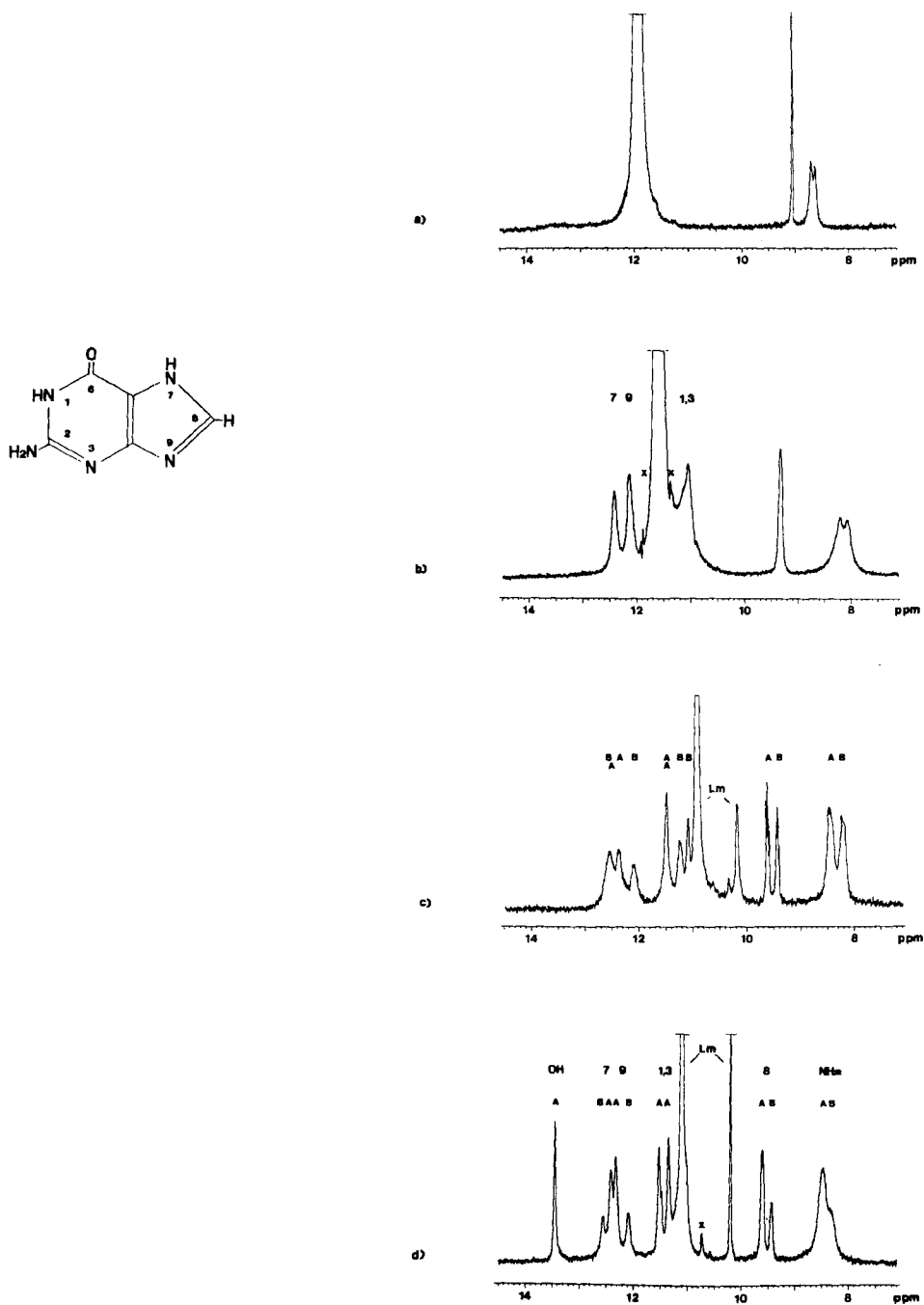


Fig. 4. NMR.-Spektren von Guanin (3) in: a) $CF_3COOH-SO_2$, -55° ; b) FSO_3H , -55° ; c), d) $FSO_3H-SbF_5-SO_2$ (1:1), 27° , -55°

beiden grossen Verschiebungen sind im Einklang mit dem Verlust je eines Protons im Pyrimidinring und Imidazolring, wodurch die Dikationstruktur 2^{2+} des Adenins in CF_3COOH bestätigt wird. Die Änderung der chemischen Verschiebung der Vinylprotonen mit zunehmender Säurestärke ist in Fig. 3 abgebildet. Auf Grund der in verdünnter H_2SO_4 (0,6 M) gemessenen chemischen Verschiebungen der Vinylprotonen [2e], sowie ihrer relativen Resonanzpositionen, könnte erwartet werden, dass Adenin unter diesen Bedingungen als Monokation vorliegt. Die Messungen in wässriger CF_3COOH (s.o.) liefern jedoch keinen Hinweis auf die Ausbildung einer diskreten, monokationischen Stufe.

3. Guanin (3). – Über die Protonenresonanzspektren von Guaninen in saurer Lösung ist nur wenig bekannt (vgl. hierzu Guanosin [7]). Die Protonierung des Guanins wurde vor allem durch UV.- [8] und IR.-Spektroskopie [7] sowie durch Röntgen-Strukturanalyse [9] des 9-Methylguanin-hydrochlorids untersucht. Während 9-Methylguanin zuerst an N(7) protoniert wird [8] [9], deuten die UV.-Spektren von Guanin in wässriger Lösung eher auf eine Protonierung an N(1) hin. Das Protonierungsverhalten des Guanins ist für uns insofern von besonderem Interesse, als diese Verbindung eine grosse strukturelle Verwandtschaft zu 2-Amino-4-oxo-3,4-dihydropyridin (Pterin) [4] [10] aufweist. Als Modellsubstanz für diese beiden Verbindungen haben wir die Protonierung des Isocytosins (2-Amino-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin) in den gleichen Lösungsmitteln bereits beschrieben [1].

Guanin ist in CF_3COOH relativ schlecht löslich. Eine gesättigte, ca. 0,2 M Lösung zeigt im NMR.-Spektrum ein scharfes Singulett (8,98 ppm) für das Vinylproton an C(8), sowie eine breite NH_2 -Absorption (ca. 8,0 ppm), welche sich in $\text{CF}_3\text{COOH-SO}_2$ bei -55° in zwei Signale aufspaltet (Fig. 4a). Bei -55° lässt sich zusätzlich eine breite Absorption bei 13,5 ppm beobachten. In FSO_3H werden bei 27° zwei NH-Resonanzen (12,02 und 12,44 ppm) sichtbar und das Vinylsignal ist durch Kopplung mit dem Proton bei 12,44 ppm in ein Dublett aufgespalten. Beim Abkühlen auf $+5^\circ$ erscheint es als Triplett, welches durch Einstrahlung bei 12,02 und 12,44 ppm entkoppelt werden kann. Die beiden NH-Signale stammen daher von den Protonen an N(7) und N(9) und können auf Grund der Spektren des 7-Methyl- und 9-Methyl-Guanins zugeordnet werden (s. Tabelle). Die Temperaturabhängigkeit der Aufspaltung des H-C(8)-Signals zeigt, dass H-N(9) einem rascheren Austausch unterliegt als H-N(7). Abkühlung auf -55° in FSO_3H (Fig. 4b) lässt zwei weitere Resonanzen bei 11,06 und 11,1 ppm in Erscheinung treten. Guanin nimmt in diesem Lösungsmittel daher mindestens zwei Protonen auf. Ferner ist bemerkenswert, dass beim Übergang von FSO_3H zu CF_3COOH nach Berücksichtigung des Lösungsmittelleffektes keine Verschiebung nach höherem Feld auftritt (vgl. hierzu Purin und Adenin). Die Vinylresonanzen der methylierten Guanine zeigen sogar im Mittel eine Verschiebung um 0,1 ppm nach tieferem Feld.

Mit $\text{FSO}_3\text{H-SbF}_5\text{-SO}_2$ -Gemisch als Lösungsmittel erhält man Spektren, die offensichtlich von zwei Spezies herrühren, was an der Verdoppelung des Vinyl-Tripletts und der anderen Signale erkennbar ist. Die relativen Intensitäten der verdoppelten Signale sind temperaturabhängig (reversibel) sowie abhängig von der Zusammensetzung des Lösungsmittels und der Konzentration des Substrates. Bei einer Zusammensetzung von $\text{FSO}_3\text{H}:\text{SbF}_5 = 2:1$ liegen die beiden Spezies in etwa gleichen Konzentrationen

vor, während im 1:1-Gemisch (Fig. 4c) die Form A überwiegt. Die Zuordnung der Signale zu den einzelnen Spezies lässt sich daher durch Variation der Zusammensetzung des Lösungsmittels sowie durch Doppelresonanzexperimente treffen. Die relativen Intensitäten der verdoppelten Signale sind ferner durch Methylsubstitution im

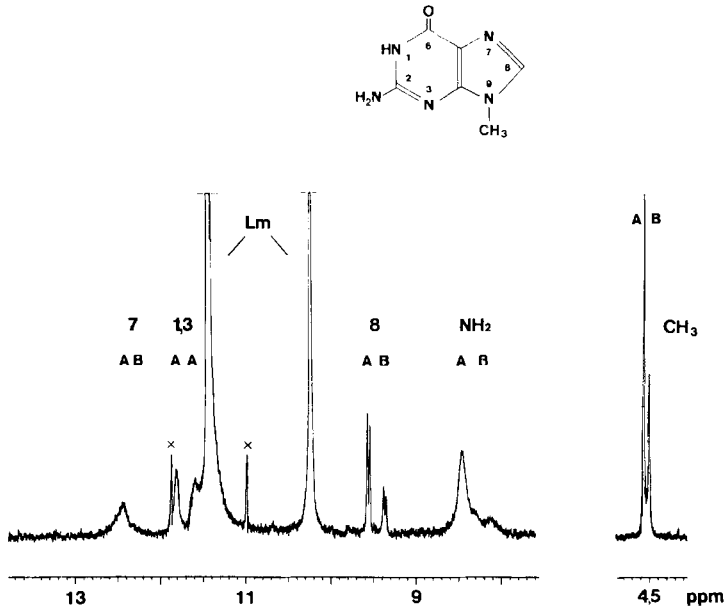
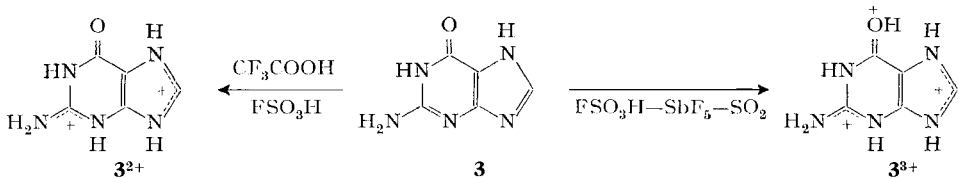


Fig. 5. NMR.-Spektrum von 9-Methylguanin in $\text{FSO}_3\text{H}-\text{SbF}_5-\text{SO}_2$ (1:1), 27°

Die Methylregion wurde im Vergleich zum übrigen Teil des Spektrums bei kleinerer Verstärkung aufgenommen

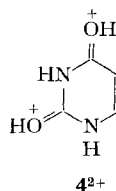
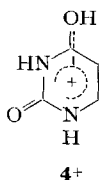
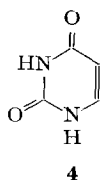
Pyrimidin- und Imidazolring zu beeinflussen. So verschiebt sich z. B. im 1-Methyl- und 7-Methyl-, sowie im 9-Methyl-Guanin (Fig. 5) das Verhältnis stark zugunsten der Form A, wobei der Einfluss der 1-Methylgruppe stärker ist als derjenige der 7- und 9-Methylgruppe. Noch stärker zeigt sich dieser Effekt im 1,7- und 1,9-Dimethylguanin, in deren Spektren das Gleichgewicht praktisch vollständig auf die Seite der Form A verschoben ist. Erniedrigung der Messtemperatur von 27° auf –55° bewirkt bei Guanin (Fig. 4d) sowie bei den methylierten Guaninen ebenfalls eine Verschiebung zugunsten der A-Form. Zusätzlich tritt ein neues Signal der A-Form auf (Guanin-13,47 ppm), welches einer OH-Resonanz zugeordnet werden muss, vgl. hierzu [1].



Zur Ableitung der in den verschiedenen Lösungsmitteln vorliegenden protonierten Formen des Guanins geht man am besten vom FSO_3H -Spektrum aus, in welchem bei

– 55° vier NH-Protonen an N(1), N(3), N(7) und N(9), sowie die NH₂-Gruppe beobachtet werden, d.h. Guanin muss mindestens in der diprotonierten Form **3²⁺** vorliegen. Da beim Übergang zur CF₃COOH-Lösung Guanin und die methylierten Guanine keine Verschiebung der Vinylresonanzen nach höherem Feld aufweisen (Tabelle), kann man schliessen, dass diese Verbindungen auch in CF₃COOH als Dikationen vorliegen. In wässriger Mineralsäure wurde beobachtet, dass die erste Protonierung vom Ort der Methylsubstitution abhängig ist [8]. Falls bei den verschiedenen Guaninen in CF₃COOH verschiedenartige Monokationen gebildet würden, wären für deren Spektren beim Übergang zum Dikation sehr unterschiedliche Änderungen zu erwarten, was jedoch nicht der Fall ist. In den Spektren in FSO₃H–SbF₅–SO₂ ist die Form A der trikationischen Struktur **3³⁺** zuzuordnen. Dies folgt eindeutig aus den vier beobachteten NH-Resonanzen sowie dem bei tiefen Temperaturen auftretenden OH-Signal. Aus dem Erscheinen der NH₂-Resonanz kann man mit Sicherheit schliessen, dass diese Gruppierung nicht protoniert wird. Die Spezies B zeigt mit Ausnahme der OH-Resonanz die gleichen Signale wie das Trikation, wobei jedoch das Vinylsignal, die NH₂-Absorption sowie die beiden NH-Signale des Pyrimidinrings deutlich nach höherem Feld verschoben sind. Da das Spektrum der Form B eine grosse Ähnlichkeit mit demjenigen von Guanin in FSO₃H (Fig. 4b) aufweist und da eine Erhöhung der Basizität des Substrates oder eine Erhöhung der Acidität des Lösungsmittels das Verhältnis von A und B stark zugunsten der Form A verschiebt, ordnen wir die Spezies B dem Dikation **3²⁺** zu.

Ähnliche Erscheinungen sind bereits früher bei der Protonierung von Hydroxypyrimidinen beobachtet worden [1]. Das Spektrum von 2,4-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin (Uracil, **4**) zeigt in FSO₃H–SbF₅–SO₂ (5:1-Gemisch) bei –55° zwei Triplette für H–C(6) und zwei Dublette für H–C(5). Ferner werden zwei OH-Signale für die C(4)=OH Gruppierung beobachtet. Die Signale der in geringerer Konzentration vorliegenden Spezies B liegen jeweils bei höheren Feldstärken. Im 2:1-Gemisch verschiebt sich das Verhältnis zugunsten von Form A. Diese Form zeigt jetzt zwei scharfe OH-Signale bei 12,11 und 12,17 ppm, während B nach wie vor nur eine Hydroxylresonanz bei 11,69 ppm aufweist. A entspricht somit dem Dikation **4²⁺** und B dem Monokation **4⁺**.



Das früher beschriebene Spektrum von 2-Oxo-1,2-dihydropyrimidin in FSO₃H–SbF₅–SO₂ (5:1) muss in gleicher Weise als dasjenige eines Gemisches des Mono- und Di-Kations interpretiert werden. In FSO₃H lässt sich ein geringer Anteil an Monokation neben dem Dikation nicht nachweisen, da die Protonen beider Spezies zu rasch ausgetauscht werden. Deshalb kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass neben den für die FSO₃H-Lösungen formulierten Purin-Kationen geringe Konzentrationen der höher oder niedriger protonierten Spezies vorliegen.

Wir danken Herrn Prof. *W. Pfeleiderer*, Konstanz, für die Überlassung von zahlreichen Guanin Derivaten und dem *Schweizerischen Nationalfonds* für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimentelles. – Purin, Adenin und Guanin sind Handelsprodukte (*Fluka AG*) und wurden ohne weitere Reinigung verwendet. Die methylierten Guanine stellte uns freundlicherweise Prof. *W. Pfeleiderer*, Konstanz, zur Verfügung. Das Lösungsmittel CF_3COOH (*Merck AG*) zeigte im NMR.-Spektrum keine Signale von Verunreinigungen, FSO_3H (*Fluka AG*) jedoch musste im Vakuum fraktioniert destilliert werden und wurde in 1-ml-Ampullen bei -20° aufbewahrt. Die Lösungsmittelgemische $\text{FSO}_3\text{H}-\text{SbF}_5-\text{SO}_2$ wurden, ausgehend von entsprechenden Standard-Gemischen, wie bereits beschrieben [1] hergestellt. Die molaren Konzentrationsverhältnisse $\text{FSO}_3\text{H}:\text{SbF}_5$ in den Standard-Gemischen betragen 1,1:1 (1:1-Gemisch) und 4,8:1 (5:1-Gemisch). Diese Standard-Gemische wurden mit flüssigem SO_2 auf das doppelte Volumen verdünnt [1]. Für die Tieftemperatur-Messungen wurden auch die Trifluoressigsäure-Lösungen mit dem gleichen Volumen an flüssigem SO_2 versetzt. Die NMR.-Spektren wurden mit einem *Varian-HA-100* (MHz)-Gerät aufgenommen, normale Messtemperatur 27° . Die Tieftemperatur-Messungen erfolgten mit Hilfe einer Temperaturkontrolleinheit V4343. Zur Temperaturerichung ($\pm 3^\circ$) diente ein in den Probenkopf eingeführtes geeichtes Thermometer. Doppelresonanzexperimente wurden nach der «frequency-sweep» Methode durchgeführt. Die chemischen Verschiebungen gelten $\pm 0,01$ ppm, die Linienpositionen der breiteren NH-Signale wurden auf die nächsten 0,05 bzw. 0,1 ppm auf- oder abgerundet.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *R. Wagner & W. von Philipsborn*, *Helv.* 53, 299 (1970).
- [2] a) *C. D. Jardetzky & O. Jardetzky*, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 222 (1960); b) *S. Matsumura & T. Goto*, *Tetrahedron Letters* 1963, 1499; c) *M. P. Schweizer, S. I. Chan, G. K. Helmkamp & P. O. P. Ts'o*, *J. Amer. chem. Soc.* 86, 696 (1964); d) *S. I. Chan, M. P. Schweizer, P. O. P. Ts'o & G. K. Helmkamp*, *ibid.* 86, 4182 (1964); e) *F. I. Bullock & O. Jardetzky*, *J. org. Chemistry* 29, 1988 (1964); f) *W. C. Coburn jr., M. C. Thorpe, J. A. Montgomery & K. Hewson*, *ibid.* 30, 1110, 1114 (1965); g) *J. M. Read & J. H. Goldstein*, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 3440 (1965).
- [3] a) *S. I. Chan & J. H. Nelson*, *J. Amer. chem. Soc.* 91, 168 (1969); b) *P. O. P. Ts'o, N. S. Kondo, M. P. Schweizer & D. P. Hollis*, *Biochemistry* 8, 997 (1969).
- [4] *A. Dieffenbacher & W. von Philipsborn*, *Helv.* 52, 743 (1969).
- [5] a) *A. Bendich, D. J. Russel & J. J. Fox*, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 6073 (1954); b) *A. Bendich, A. Giner-Sorolla & J. J. Fox*, *Ciba Foundation, Symposium, Chemistry and Biology of Purine*, Little, Brown and Co., Boston, Mass., 1957, S. 3–16, c) *A. Albert*, in «Physical Methods in Heterocyclic Chemistry», Bd. 1; *A. R. Katritzky*, Ed., Academic Press, Inc., New York, N. Y., 1963, S. 50.
- [6] *J. L. Kurz & J. H. Farrar*, *J. Amer. chem. Soc.* 91, 6057 (1969).
- [7] *H. T. Miles, F. B. Howard & J. Frazier*, *Science* 142, 1458 (1963).
- [8] *W. Pfeleiderer*, *Liebigs Ann. Chem.* 647, 167 (1961).
- [9] *H. Sobell & K. Tomita*, *Acta crystallogr.* 17, 126 (1964).
- [10] *A. Dieffenbacher, R. Mondelli & W. von Philipsborn*, *Helv.* 49, 1355 (1966).