

253. $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchungen an Droso- und Isodrosopterin – ein Beitrag zur Strukturaufklärung

Pteridine, LV¹⁾

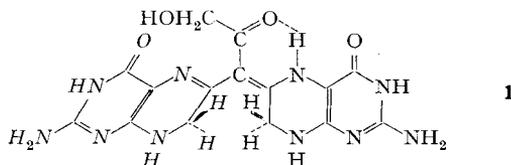
von **Heinrich Schlobach**²⁾ und **Wolfgang Pfeleiderer**

Aus dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

(25. VIII. 72)

Summary. The NMR. spectra of droso- and isodrosopterin (**1**) in DMSO-d_6 , 1% $\text{DCI/D}_2\text{O}$ solution, $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$, and conc. sulfuric acid are discussed in detail. Missing of methine and methyl groups and proof for the presence of three isolated methylene functions of which two show a geminal coupling are consistent with the proposed structure of atropisomeric di(7,8-dihydropterinyl)-methane dye stuffs.

Die von uns vorgeschlagene Struktur der Drosopterine (**1**) beruht im wesentlichen auf einer Mol.-Gew.-Bestimmung, dem alkalischen Abbau [2] und der Synthese [1].



Verschiedene physikalische Eigenschaften [3] wie die optische Aktivität, die langwelligen Absorptionen, Basizität und Acidität sowie die polarographische Reduzierbarkeit stehen mit dieser Konstitution im Einklang.

Da ein direkter Nachweis über das beidseitige Vorliegen einer 7,8-Dihydropterin-Struktur und die Natur der Seitenkette bislang nicht vorlag, haben wir NMR.-Untersuchungen an den *Drosophila*-Pigmenten durchgeführt. Auch sollte sich die Atropisomerie der Molekel, welche wir einer gehinderten Rotation um die C(6)-Einfachbindung zuschreiben, im NMR.-Spektrum widerspiegeln.

Die bereits von *v. Philipsborn* [4] mitgeteilten allgemeinen Schwierigkeiten bei Aufnahme von Pterinspektren treten auch bei den Drosopterinen zutage. In erster Linie sind es die schlechten Löslichkeitseigenschaften, welche das Arbeiten in normalen organischen Solventien nicht erlauben. So war es gerade noch möglich, in DMSO-d_6 eine für ein 100-MHz-Spektrum ausreichende Konzentration herzustellen. Ferner steht die grosse Instabilität der Drosopterine einer allgemeinen Bearbeitung im Wege, da selbst unter Sauerstoffausschluss in den wenigen verwendbaren Lösungsmitteln wie Trifluoressigsäure, konz. Schwefelsäure oder wässriger DCI -Lösung schon nach kurzer Zeit Zersetzungs- und Umwandlungsreaktionen eintreten. Diesen Tatsachen muss bei der Interpretation der Spektren Rechnung getragen werden.

¹⁾ LIV. Mitteilung: siehe [1].

²⁾ Teil der Dissertation *H. Schlobach*, Univ. Konstanz 1971.

Das 100-MHz-Spektrum der natürlichen Drosopterine in DMSO-d_6 (Fig. 1) zeigt bei tiefem Feld drei relativ breite Signale, die wir in Analogie zu den Befunden an einfacheren Pterin-Modellsubstanzen [4] verschiedenen N-H-Protonen zuordnen. Das Signal bei δ 11 ppm dürfte demnach ein cheliertes Proton darstellen, wie es an N(5) gebunden ist, zumal hier gewisse Parallelen zum Erythropterin [5] und verwandten Xanthopterin-Abkömmlingen [6] bestehen. Wahrscheinlich trägt diese Wasserstoffbrücke ganz wesentlich zur Stabilisierung der Seitenkette und ihrer kon-

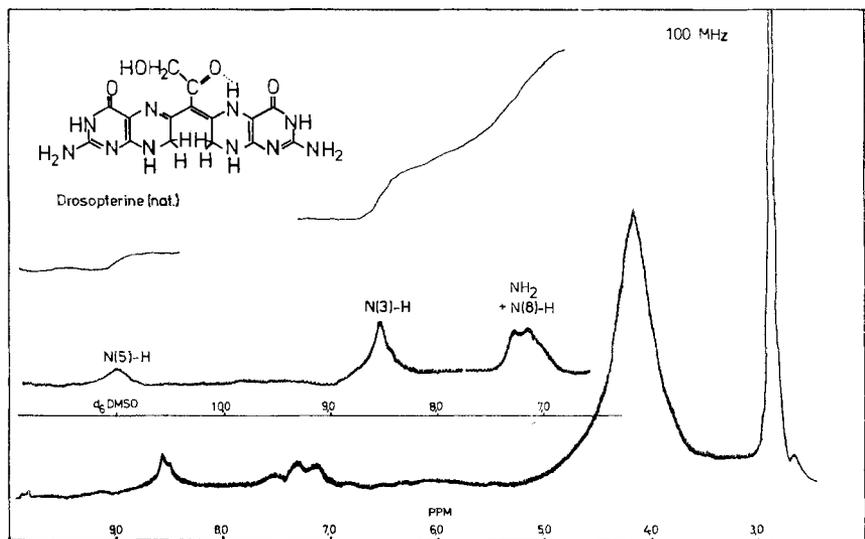


Fig. 1. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum natürlicher Drosopterine in DMSO-d_6 , 100 MHz, TMS als Standard, Raumtemp.

formativen Fixierung bei und ist für die relativ hohe Rotationsbarriere um die C(6)-Einfachbindung mit verantwortlich. Dass auch im IR.-Spektrum keine Ketocarbonylgruppe zu erkennen ist, deckt sich mit der angenommenen vinylogen Säureamid-Formulierung in diesem Teil der Molekel. Das breite Signal bei δ 8,6 ppm entspricht 2 Protonen und stimmt in der Lage recht gut mit den bei anderen Pterinen beobachteten Amidprotonenresonanzen an N(3) überein. Dem intensivsten und stark aufgespaltenen Signal bei δ 7,3 ppm liegen 6 Protonen ähnlicher chemischer Verschiebung zugrunde, wie sie bei den 2-Aminogruppen und N(8)-Protonen gegeben sind. Gestützt werden die Zuordnungen dadurch, dass alle diese Signale nach Deuteriumaustausch in $\text{DCI/D}_2\text{O}$ und in Deuteriotrifluoressigsäure verschwunden sind (Fig. 2).

Die für die Strukturaussagen wichtigen Protonen der Drosopterine sind die der Methylengruppen, der 7-Stellungen und der Seitenkette. Aufgrund der dissymmetrischen Struktur der Pigmente sind nicht nur die beiden ersten Funktionen ungleichwertig, sondern die jeweiligen Protonen müssen sich auch infolge ihrer unterschiedlichen Umgebung durch eine charakteristische geminale Kopplung zu erkennen geben.

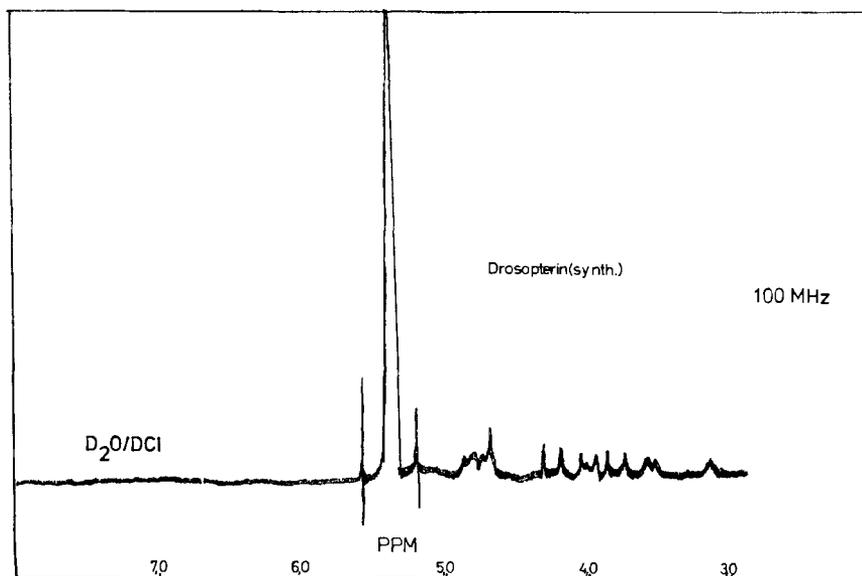


Fig. 2. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von synthetischem Drosopterin (**1**) in 1proz. DCl in D_2O . 100 MHz, TMS als Standard, Raumtemp.

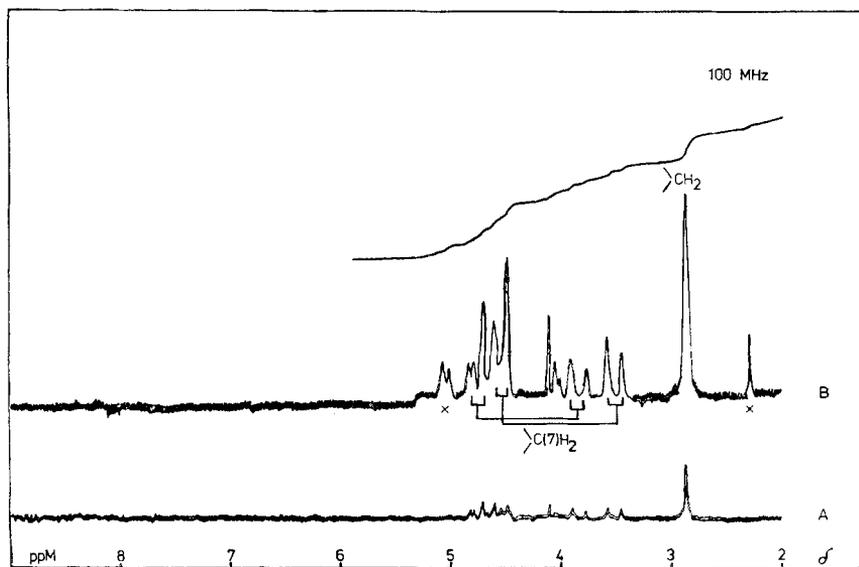


Fig. 3. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von synthetischem Drosopterin (**1**) in entgasster Deuteriotrifluoressigsäure, 100 MHz, TMS als Standard, Raumtemp. A sofort nach Auflösung; B nach 9 Akkumulationen; X Folgeprodukt

Am besten sichtbar werden diese komplexen Verhältnisse in einem 100-MHz-Spektrum in entgaster Deuteriotrifluoressigsäure (Fig. 3) nach mehrfacher Akkumulation des entscheidenden Bereiches zwischen δ 2 und 5 ppm. Es treten hierbei wie erwartet zwei Dublettpaare mit Kopplungskonstanten von jeweils 13 Hz auf. Durch Entkopplungsexperimente lässt sich zeigen, dass die Protonen bei δ 3,48 und 4,5 ppm bzw. 3,8 und 4,72 ppm miteinander koppeln. Dies beweist direkt unsere Annahme über das Vorliegen atropisomerer Molekel, die ihre enorme optische Aktivität somit einem durch Rotationshinderung zustande gekommenen, inhärent dissymmetrischen Chromophor verdanken.

Zwei weitere Protonen, welche sich nicht durch Deuterium austauschen lassen, zeigen eine chemische Verschiebung von δ 2,86 ppm und gehören zur Hydroxymethylgruppe der Seitenkette.

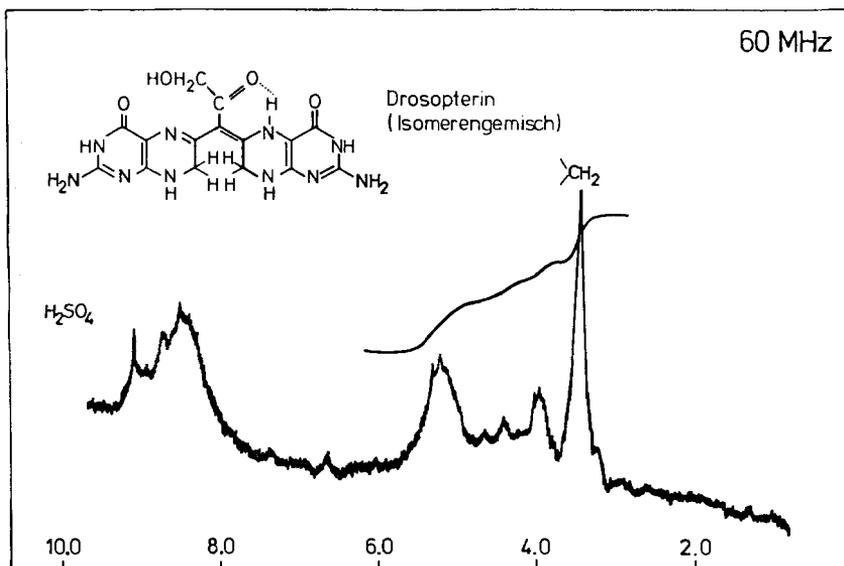


Fig. 4. ¹H-NMR.-Spektrum des synthetischen Droso-/Isodrosopterin-Gemisches in konz. Schwefelsäure, 60 MHz, TMS als Standard, Raumtemp.

In konz. Schwefelsäure sind diese Signale nach δ 3,5 ppm verschoben (Fig. 4). Die Integration zeigt auch recht deutlich, dass nur 2 Protonen vorliegen und die Seitenkette daher nicht, wie früher vermutet [7], von einer Methylgruppe begrenzt wird.

Aus dem NMR.-Spektrum lässt sich ferner ablesen, dass infolge des Fehlens eines Methinsignals der Strukturvorschlag eines halbseitig oxydierten heteroaromatischen Pterinsystems für die Drosopterine nicht diskutiert zu werden braucht. Unter gebührender Berücksichtigung der schwierigen Aufnahmetechnik unterscheiden sich die NMR.-Spektren der natürlichen und der synthetischen Isomeren in Trifluoressigsäure und DCI/D₂O in der Lage und Strukturierung der Signale nicht. Dies darf neben dem Spiegelbild-Charakter der ORD.- und CD.-Spektren sowie der erfolgreichen Isomerentrennung an einem chiralen Trägermaterial als weiterer Beweis dafür

gewertet werden, dass es sich beim Droso- und Isodrosopterin tatsächlich um Enantiomere handelt und dass auch das natürliche und synthetische Material strukturell identisch ist.

Den Herren Prof. Dr. *W. v. Philipsborn*, Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich, und Doz. Dr. *J. Jochims*, Fachbereich Chemie der Universität Konstanz, danken wir für die Aufnahme der 100-MHz-Spektren und wertvolle Diskussionen. Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* schulden wir Dank für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Für die Aufnahme der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren standen ein HA 100- und A 60-A-Gerät der Firma Varian zur Verfügung.

100-MHz-Spektren in DMSO- d_6 . Durch Lösen von 5 mg Droso- bzw. Isodrosopterin (**1**) in 0,5 ccm DMSO- d_6 wird bei Raumtemp. eine ges. Lösung hergestellt, vom Ungelösten durch Einsaugen in eine mit Watte verschlossene Kapillare abgetrennt, und dann die tiefrote Lösung vermessen.

100-MHz-Spektren in Deuteriotrifluoressigsäure. Etwas Deuteriotrifluoressigsäure wird zunächst entgast, dann werden 7 mg Droso- bzw. Isodrosopterin (**1**) in 0,5 ml gelöst, erneut entgast und nach ca. 30 Min. das erste Spektrum aufgenommen. Das Spektrum von 9 Akkumulationen wurde nach einem Zeitintervall von 2 Std. registriert.

100-MHz-Spektren in 1proz. DCl/D $_2$ O. 5 mg Droso- bzw. Isodrosopterin (**1**) werden mit jeweils 3 ml D $_2$ O 3mal im RV. zur Trockne eingengt und dann schliesslich in 0,5 ml 1proz. DCl/D $_2$ O gelöst und vermessen.

60-MHz-Spektrum in konz. Schwefelsäure. 20 mg Droso-/Isodrosopterin-Gemisch (**1**) werden in 0,5 ml konz. Schwefelsäure bei Raumtemp. gelöst und dann die dunkelgelbbraune Lösung ölgiger Konsistenz möglichst rasch zur Aufnahme gebracht.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *H. Schlobach & W. Pfeleiderer*, Helv. 55, 2533 (1972).
- [2] *H. Schlobach & W. Pfeleiderer*, Helv. 55, 2518 (1972).
- [3] *H. Schlobach & W. Pfeleiderer*, Helv. 55, 2525 (1972).
- [4] *A. Dieffenbacher, R. Mondelli & W. v. Philipsborn*, Helv. 49, 1355 (1966).
- [5] *W. v. Philipsborn, H. Stierlin & W. Traber*, Helv. 46, 2592 (1963).
- [6] *L. Merlini, W. v. Philipsborn & M. Viscontini*, Helv. 46, 2597 (1963).
- [7] *M. Viscontini*, Helv. 41, 1299 (1958); *M. Viscontini & E. Möhlmann*, Helv. 42, 1679 (1959).

254. The Solution Conformation of *cyclo*-Glycyl-L-prolyl-glycyl-glycyl-L-prolyl-glycyl¹⁾

Communication 22 (*preliminary*) on homodetic cyclic polypeptides [1]

by **R. Schwyzer, Ch. Grathwohl, J. P. Meraldi, A. Tun-Kyi, R. Vogel**
and **K. Wüthrich**

Institut für Molekularbiologie und Biophysik, Eidg. Technische Hochschule
CH-8049 Zürich

(30. VIII. 72)

Our last report on this subject [2] had left us with an option for two different solution conformations, III a and III b, for *cyclo*-(-Gly-Pro-Gly) $_2$. We have now been

¹⁾ Note added in proof: *Blout, Deber & Pease* (Harvard University) have independently reached similar conclusions (*E. R. Blout*, personal communication).