

- [12] *T. B. Vree, D. D. Breimer, C. A. M. van Ginneken, J. M. van Rossum, R. A. de Zeeuw & A. H. Witte*, *Clin. chim. Acta* **34**, 365 (1971).
- [13] *T. B. Vree, D. D. Breimer, C. A. M. van Ginneken & J. M. van Rossum*, *J. Pharm. Pharmacol.* **24**, 7 (1972).
- [14] *U. Claussen, H.-W. Fehlhaber & F. Korte*, *Tetrahedron* **22**, 3535 (1966).
- [15] *H. Budzikiewicz, R. T. Alpin, D. A. Lightner, C. Djerassi, R. Mechoulam & Y. Gaoni*, *Tetrahedron* **21**, 1881 (1965).
- [16] *J. Diekman, J. B. Thomson & C. Djerassi*, *J. org. Chemistry* **32**, 3904 (1967); *J. org. Chemistry* **33**, 2271 (1968).
- [17] *M. E. Wall*, *Annalen N.Y.A. Sciences*, (1974) im Druck.

178. Carotinoid-Glycoside

1. Mitteilung

Partialsynthese und Charakterisierung von Zeaxanthin Mono- und Diglucosid

von Hanspeter Pfander und Martin Hodler¹⁾

Institut für organische Chemie der Universität Bern, Länggass-Strasse 7, 3012 Bern

(20. VI. 74)

Zusammenfassung. Peracetyliertes Zeaxanthin Mono- und Diglucosid sowie die entsprechenden freien Glucoside wurden partialsynthetisiert und mit Hilfe von UV./VIS.-, IR.-, Massen- und NMR.-Spektren identifiziert. Mit den kristallinen freien Glucosiden wurden anschliessend Beständigkeitsversuche durchgeführt.

Die Partialsynthese erfolgte aus α -Acetobromglucose und Zeaxanthin (3,3'-Dihydroxy- β , β -carotin) nach der Methode von *Koenigs & Knorr*. Die freien Glucoside wurden durch Verseifen der peracetylierten Verbindungen in methanolischem Kaliumhydroxid erhalten.

Die kristallinen freien Glucoside liessen sich in Mengen von ungefähr 100 ppm (Monoglucosid) und 800 ppm (Diglucosid) in Wasser lösen. Die wässrigen Lösungen erwiesen sich als sehr beständig gegen Lichteinwirkung und Kontakt mit Luftsauerstoff. Das Diglucosid erwies sich sowohl gegenüber der sauren (pH 3) als auch gegenüber der basischen (pH 9) Hydrolyse als beständig.

1. Einleitung. – Das Crocin, der Di-gentiobiose-ester der C₂₀-Dicarbonsäure Crocetin, war lange das einzig bekannte Carotinoid-glycosid [1] [2].

In letzter Zeit wurden aus Algen [3] [4] und Bakterien [5]–[7] eine ganze Reihe von weiteren Carotinoidglycosiden isoliert.

Versuche zur Partialsynthese solcher Verbindungen sind bis heute, abgesehen von einer Ausnahme, nicht durchgeführt worden. Einzig *Jensen et al.* [5] haben mit der Methode nach *Koenigs & Knorr* [8] aus 1'-Hydroxy-2'-oxo-1',2'-dihydrotorulin und Acetobromglucose mit einer Ausbeute von 5% 2'-Oxo-phleixanthophyll-tetraacetat synthetisiert, wobei das Produkt jedoch nicht kristallin isoliert werden konnte.

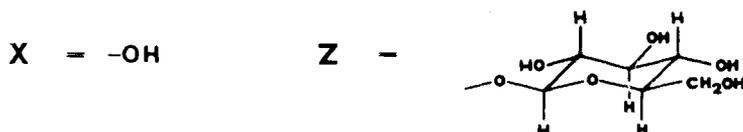
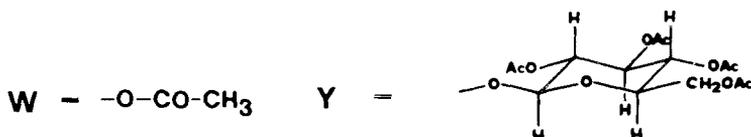
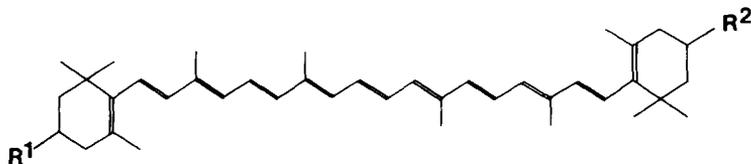
Im Hinblick auf Vergleichsmöglichkeiten bei der Untersuchung natürlich vorkommender Carotinoidglycoside einerseits und zum Studium der Eigenschaften solcher Verbindungen andererseits, sind solche Partialsynthesen von grossem Interesse.

¹⁾ 2. Teil der Dissertation von *M. Hodler*, Universität Bern, 1973.

Die vorliegende Arbeit liefert einen Beitrag zur Abklärung der Synthesemöglichkeiten von Carotinoidglycosiden, sowie die Resultate einiger Beständigkeitsversuche, die mit dem kristallinen, freien Zeaxanthin Mono- und Diglucosid durchgeführt wurden.

Strukturen der identifizierten Verbindungen

	R ¹	R ²
Verbindung I (Zeaxanthin- β -D-glucosid-peracetat)	W	Y
Verbindung II (Zeaxanthin- β -D-glucosid)	X	Z
Verbindung III (Zeaxanthin- β , β -D-diglucosid-peracetat)	Y	Y
Verbindung IV (Zeaxanthin- β , β -D-diglucosid)	Z	Z



2. Ergebnisse. – Als erstes wurde die Anwendbarkeit der Glycosidierungsmethode von *Koenigs & Knorr* [8] auf Carotinoide untersucht, wobei als Modellsubstanz Zeaxanthin (3,3'-Dihydroxy- β , β -carotin), das in grösseren Mengen zur Verfügung stand, diente. Die Umsetzung des Zeaxanthins mit α -Acetobromglucose und festem Silbercarbonat in Diäthyläther erfolgte im Hinblick auf eine möglichst grosse Aus-

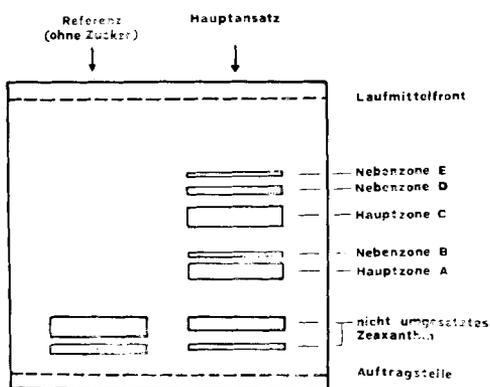


Fig. 1

beute bei einer Temperatur von -14° [9]. Der Verlauf der Reaktion wurde dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Bereits nach 6 Stunden waren erste Reaktions-produkte sichtbar. Neben nicht umgesetzten Zeaxanthin und drei schwachen Neben-zonen konnten zwei Hauptprodukte beobachtet werden (vgl. Fig. 1). Die Intensität dieser Produktzonen nahm im Verlaufe von 20 Tagen gleichmässig zu, um dann konstant zu bleiben. Nach 20 Tagen wurde das Reaktionsgemisch dünn-schicht-chromatographisch aufgetrennt und die beiden Hauptprodukte kristallisiert. Aus 113,6 mg Zeaxanthin konnten 15 mg Zone A und 18 mg Zone C isoliert werden.

Zone A: Zeaxanthin- β -D-glucosid-peracetat (I). – Der Rf-Wert dieser Zone im Laufmittel Benzol/Petroläther/Äthanol 50:50:8 beträgt ungefähr 0,2. Das Elektro-nenspektrum, gemessen in Benzol, zeigt Maxima bei 462 und bei 492 nm. Der ty-pische β -Carotin-Habitus weist darauf hin, dass das im Zeaxanthin vorhandene System von konjugierten Doppelbindungen durch die Reaktion nicht verändert worden ist. Das Massenspektrum (Fig. 2) bestätigt Struktur I und zeigt die für

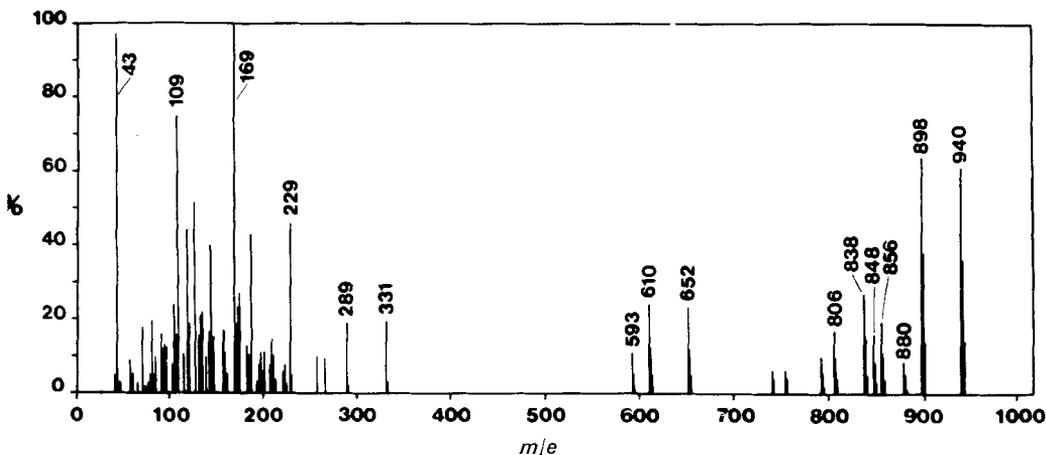
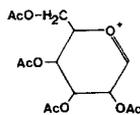


Fig. 2

peracetylierte Carotinoid-glycoside charakteristische Fragmentierung [10]: m/e 940 (M^+), 898 ($M - 42$), 880 ($M - 60$), 856 ($M - 42 - 42$), 848 ($M - 92$), 838 ($M - 60 - 42$), 806 ($M - 92 - 42$), 652 ($M - 288$), 610 ($M - 330$), 593 ($M - 347$), 331, 289 ($331 - 42$), 229 ($331 - 42 - 60$), 169 ($331 - 42 - 60 - 60$) (= 100%), 109, 43.

Die Zuordnung der Bruchstücke kann wie folgt vorgenommen werden: 42 = Keten, 43 = CH_3CO^+ , 60 = HAc, 92 = Toluol. Das Bruchstück 331 kann dem in Figur 3 dargestellten Kation zugeschrieben werden [10].



$m/e = 331$

Fig. 3

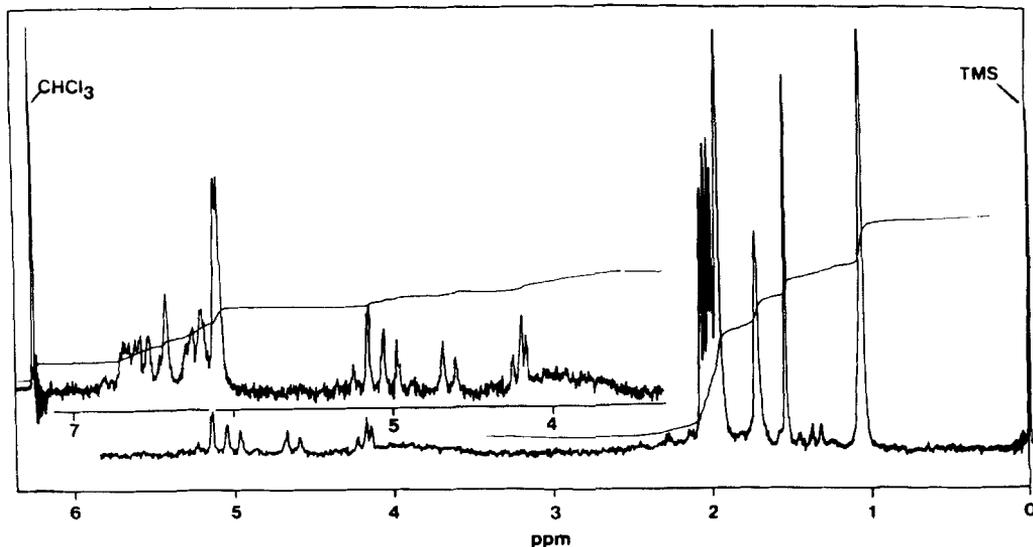


Fig. 4

Das in Figur 4 gezeigte NMR.-Spektrum unterstützt ebenfalls die vorgeschlagene Struktur I für die Zone A: Die Methylgruppen am β -Ring erscheinen bei 1,07 ppm (16,16'-, 17,17'-CH₃, 12H) und bei 1,73 ppm (18,18'-CH₃, 6H). Das Signal für die geminalen Methylgruppen ist nicht aufgespalten, wie dies zu erwarten wäre [11], doch deutet die relativ grosse Signalbreite darauf hin, dass die beiden Methylgruppen möglicherweise nicht völlig äquivalent sind. Die Ketten-Methylgruppen sind bei 1,97 ppm zu finden (19,19'- und 20,20'-CH₃), und die olefinischen Protonen liegen im Bereich zwischen 6 und 7 ppm (14H). Die Methylprotonen der Acetoxygruppen liegen bei 2,01, 2,03, 2,06 und 2,08 ppm. Das Integral des Bereiches zwischen 1,8 und 2,5 ppm ergibt ungefähr 30 Protonen. Die Signale im Bereiche von 4 bis 5,3 ppm sind den Protonen des Zuckers zuzuordnen, wobei das Dublett bei 4,46 ppm ($J \sim 8$ Hz) dem Proton am anomeren C-Atom entspricht, was auf die β -D-Konfiguration hindeutet [6].

Das in Benzol aufgenommene IR.-Spektrum der Zone A ist in Figur 5 dargestellt und weist folgende Banden auf: 900 cm⁻¹ (*trans*-tri-substituierte Doppelbindung),

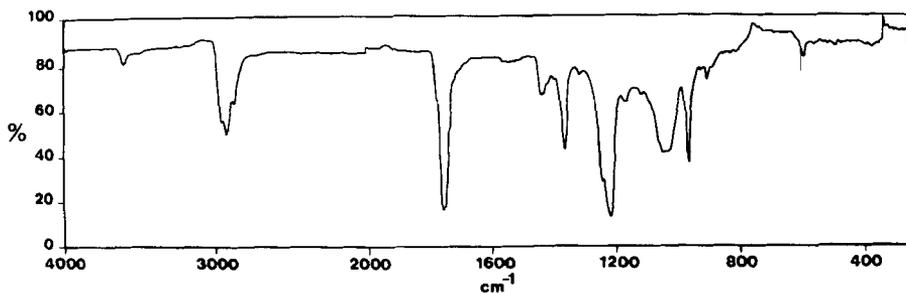


Fig. 5

965 cm^{-1} (*trans*-di-substituierte Doppelbindung), 1030–1040 cm^{-1} (Acetat), 1220 cm^{-1} (Acetat), 1365 cm^{-1} (CH_3), 1440 cm^{-1} (CH_2), 1760 cm^{-1} (Acetat), 2860 cm^{-1} , 2920 cm^{-1} und 2960 cm^{-1} (CH).

Durch alkalisches Verseifen wurde die peracetylierte Verbindung I anschliessend ins Zeaxanthin- β -D-glucosid (II) übergeführt. Aus 113,6 mg Zeaxanthin konnten 8 mg Zeaxanthin-mono-glucosid hergestellt werden.

Das Elektronenspektrum ist mit dem der peracetylierten Verbindung identisch (Maxima in Methanol: 447 und 474 nm).

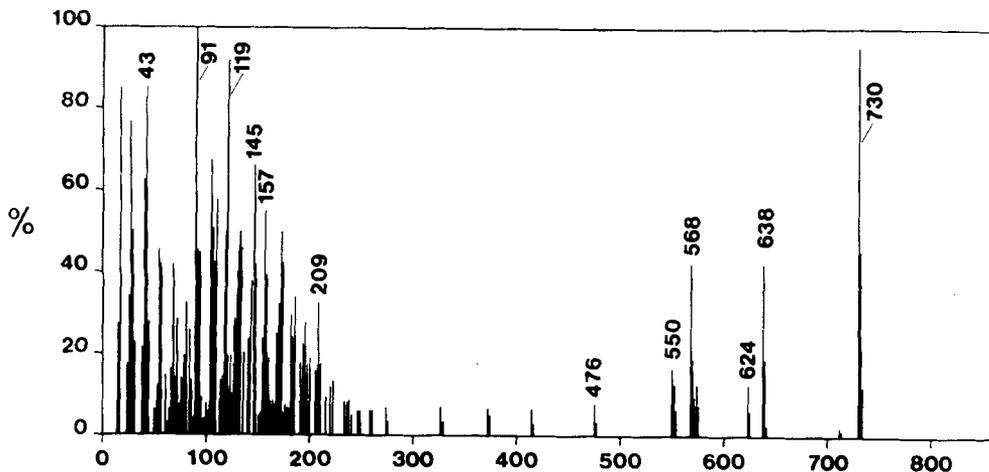


Fig. 6

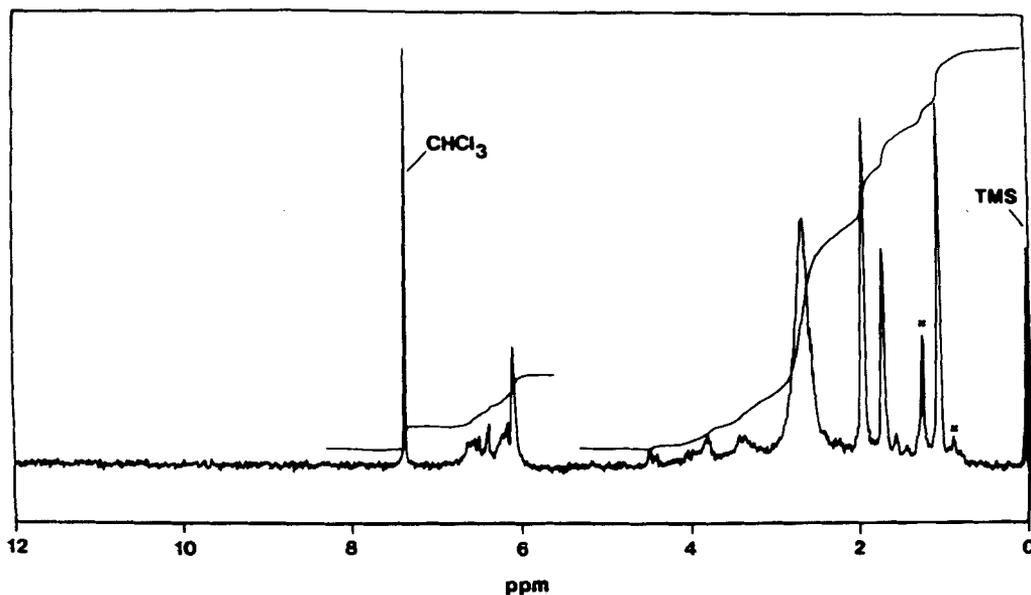


Fig. 7

Im Massenspektrum (Fig. 6) sind im oberen Bereich folgende charakteristische Fragmentierungen sichtbar: m/e 730 (M^+), 712 ($M - 18$), 638 ($M - 92$), 568 ($M - 162$), 550 ($M - 180$), 476 ($M - 254$).

Die Zuordnung der abgespaltenen Bruchstücke kann wie folgt vorgenommen werden: 18 = H_2O , 92 = Toluol, 162 = Glucose - H_2O , 180 = Glucose, 254 = Glucose - H_2O + Toluol. Bei den Fragmentierungen m/e 209, 157, 145, 119, 91 (= 100%) und 43 – um nur die wichtigsten zu erwähnen – handelt es sich um typische Zucker- und Carotinoidfragmente.

Das NMR.-Spektrum des Zeaxanthin- β -D-glucosids (Fig. 7) zeigt wie dasjenige der peracetylierten Verbindung die für das Aglycon charakteristischen Signale bei 1,07, 1,73 und 1,97 ppm für die Methylgruppen und im Bereiche von 6 bis 7 ppm für die olefinischen Protonen. Bei 4,7 ppm liegt das Multiplett des Protons am anomeren C-Atom (Integral: 1H). Die Signale der übrigen Protonen der Glucose liegen zwischen 3 und 4 ppm, die alkoholischen Protonen als breites Signal bei ungefähr 2,7 ppm. (Durch Austausch dieser Protonen mit D_2O konnte gezeigt werden, dass kein weiteres Signal in diesem Bereiche liegt). Die im Spektrum des peracetylierten Monoglucosids auftretenden Signale zwischen 2,0 und 2,1 ppm (Methylprotonen der Acetoxygruppen) fehlen hier vollständig.

Zone C: Zeaxanthin- β , β -D-di-glucosid-peracetat (III). Der Rf-Wert dieser Zone im I aufmittel Benzol/Petroläther/Äthanol 50:50:8 beträgt ungefähr 0,4. Das Elektronenspektrum ist mit demjenigen der Verbindung I identisch (Maxima in Benzol: 462 und 492 nm).

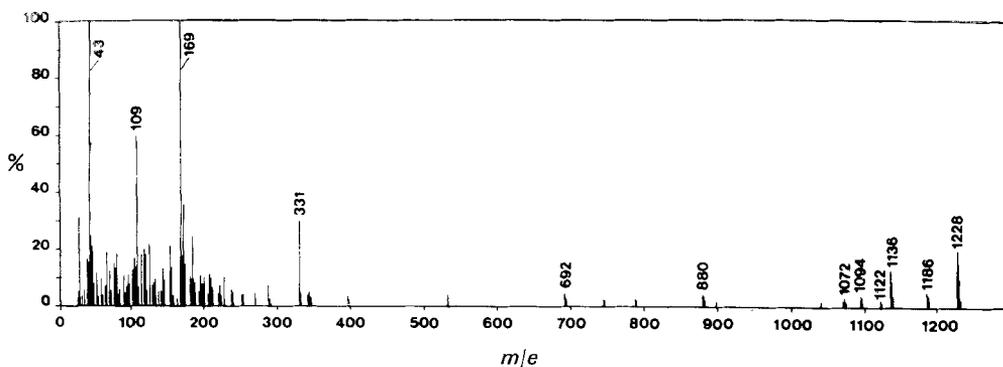


Fig. 8

Das Massenspektrum (Fig. 8) zeigt die folgenden Signale: m/e 1228 (M^+), 1186 ($M - 42$), 1136 ($M - 92$), 1122 ($M - 106 = \text{Xylol}$), 1094 ($M - 92 - 42$), 1072, 880 ($M - 330 - H_2O$), 692, sowie das für peracetylierte Glucoside charakteristische Bruchstück bei $m/e = 331$ (vgl. Fig. 3) und die bekannten Fragmente 169 und 109.

Das NMR.-Spektrum (Fig. 9) entspricht in bezug auf die Lage der Signale dem des peracetylierten Monoglucosids (vgl. Fig. 4). Die aus dem Integral ersichtliche Protonenzahl bei den entsprechenden Signalen steht im Einklang mit der postulierten Struktur III.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim IR.-Spektrum (Fig. 10). Auch hier stimmen die Lagen der Absorptionsbanden des peracetylierten Mono- und Diglucosids überein.

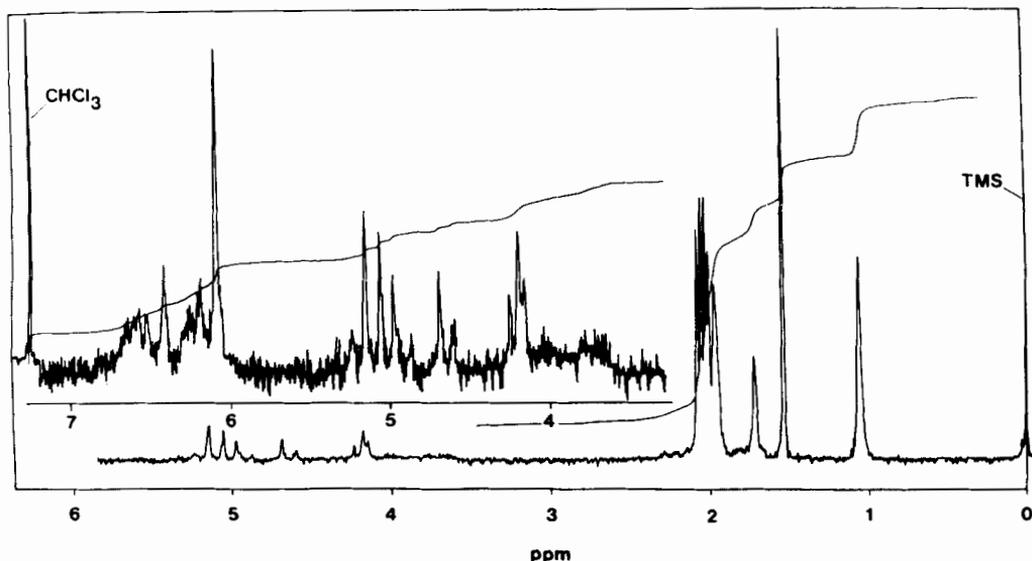


Fig. 9

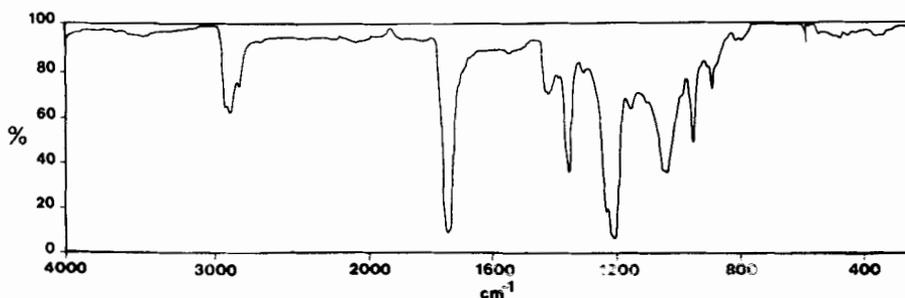


Fig. 10

Die Intensitäten der einzelnen Banden sind jedoch entsprechend der zwei vorgeschlagenen Strukturen verschieden.

Durch alkalisches Verseifen wurde das Zeaxanthin- β,β -D-diglucosid (IV) hergestellt. Das in Methanol aufgenommene Elektronenspektrum ist mit dem des freien Monoglucosids identisch (Maxima: 447 und 474 nm).

Im Massenspektrum (Fig. 11) ist das Signal für das Molekular-Ion wegen des geringen Dampfdruckes der Verbindung nicht sichtbar. Das höchste Signal liegt bei $m/e = 772$ ($M - 120$) und dürfte von der Abspaltung eines C_4 -Bruchstückes herrühren [12]. Weiter treten folgende Fragmentierungen auf: m/e 754 ($M - 120 - H_2O$), 736 ($M - 120 - H_2O - H_2O$), 730 ($M - \text{Glucose} - H_2O$), 712 ($M - \text{Glucose}$), 694 ($M - \text{Glucose} - H_2O$), 638 [$M - (\text{Glucose} - H_2O) - \text{Toluol}$], 620 [$M - (\text{Glucose} - H_2O) - \text{Toluol} - H_2O$], 610 [$M - (\text{Glucose} - H_2O) - 120$], 592 [$M - (\text{Glucose} - H_2O) - 120 - H_2O$], 568 [$M - 2 \times (\text{Glucose} - H_2O) = \text{Zeaxanthin}$], 550 [$M - 2 \times (\text{Glucose} - H_2O) - H_2O$], 532 ($550 - H_2O$), 458 ($550 - \text{Toluol}$). Charakteristisch ist ferner das intensive, bereits beim Monoglucosid auf-

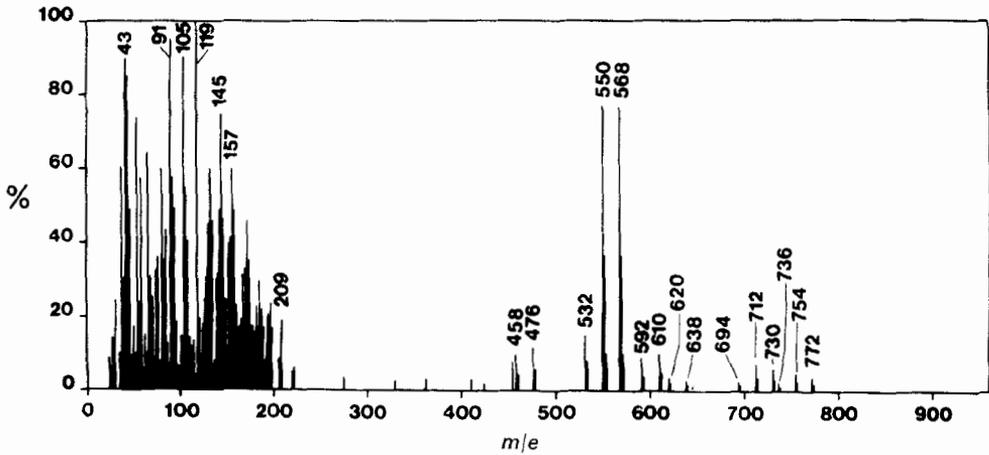


Fig. 11

tretende Bruchstück m/e 119, das wohl in engem Zusammenhang mit dem erwähnten Bruchstück m/e 120 steht.

Das NMR.-Spektrum (Fig. 12) des freien Zeaxanthin- β,β -D-di-glucosids zeigt, in Analogie zum Spektrum der peracetylierten Form, die für das Aglycon charakteristischen Signale bei 1,07, 1,74 und 1,97 ppm für die Methylgruppen und im Bereiche von 6 bis 7 ppm für die olefinischen Protonen. Bei 4,6 ppm ist auch hier ein Multipllett zu sehen, das dem Proton am anomeren C-Atom des Zuckerrestes zu-

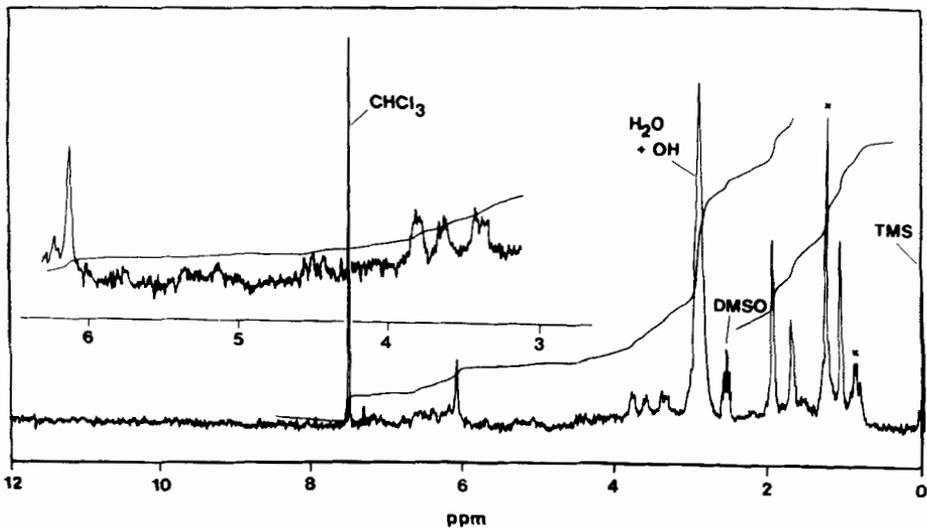


Fig. 12

geschrieben werden kann. Die Integration dieses Signals ergibt zwei Protonen, so dass es sich um das Diglucosid handeln kann. Die Signale der übrigen Protonen der

Glucoseresste liegen auch hier deutlich sichtbar zwischen 3 und 4 ppm. Die alkoholischen Protonen erscheinen als breites Signal bei ungefähr 2,9 ppm. Die Signale der Methylprotonen der Acetoxygruppen der peracetylierten Verbindung zwischen 2,0 und 2,1 ppm (vgl. Fig. 9) treten nicht mehr auf.

Die IR.-Spektren der freien Glucoside, die in Pyridin aufgenommen wurden, zeigen für die Banden der CH_3 - und der CH_2 -Gruppen sowie der CH-Beugeschwingung der *trans*-tri- und di-substituierten Doppelbindungen analoge Lagen wie die Spektren der peracetylierten Verbindungen, nur dass hier die intensiven Acetatbanden bei 1030, 1220 und 1760 cm^{-1} fehlen (vgl. Fig. 5 und 10).

Die bei der dünn-schichtchromatographischen Trennung der unverseiften Ansätze auftretenden wesentlich schwächeren Zonen B, D und E (vgl. Fig. 1) wurden ebenfalls untersucht. Wegen der geringen Ausbeute konnten sie nur in Mengen erhalten werden, die es gestatteten, UV./VIS.- und Massen-, nicht aber NMR.- und IR.-Spektren aufzunehmen. Massen- und Elektronenspektrum der aus der Zone B isolierten Verbindung sind mit denjenigen des Zeaxanthin- β -D-glucosid-peracetats (I), diejenigen der Zonen D und E mit demjenigen des Zeaxanthin- β , β -D-diglucosid-peracetats (III) identisch.

Aufgrund des von *Wulff et al.* [9] vorgeschlagenen Mechanismus dieser in Diäthyläther an festem Silbercarbonat ablaufenden Reaktion ist es naheliegend, den beiden Hauptprodukten für die glycosidische Verknüpfung die β -(Monoglucosid) bzw. die β , β -(Diglucosid)-Konfiguration zuzuordnen, da ja im postulierten $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Mechanismus Inversion am anomeren Kohlenstoffatom der α -Acetobromglucose zu erwarten ist. Diese Hypothese wird durch Daten der NMR.-Spektren der peracetylierten Verbindungen (Fig. 4 und 9) erhärtet (vgl. auch [6]). In Einklang mit dieser Annahme liessen sich auch die Nebenzonen B, D und E erklären. Es könnte folgende Zuordnung vorgenommen werden:

- Zone A: Zeaxanthin- β -D-glucosid-peracetat I
- Zone B: Zeaxanthin- α -D-glucosid-peracetat
- Zone C: Zeaxanthin- β , β -D-di-glucosid-peracetat II
- Zone D: Zeaxanthin- β , α -D-di-glucosid-peracetat
- Zone E: Zeaxanthin- α , α -D-di-glucosid-peracetat

Mit Hilfe von NMR.-Spektren und durch das Messen der optischen Rotationsdispersion (Orientierung des *Cotton*-Effektes) könnte eine Verifizierung dieser hypothetisch vorgenommenen Zuordnung der anfallenden Produkte erhalten werden.

Charakterisierung der erhaltenen Glucoside. – Die kristallinen Glucoside liessen sich bis zu 100 ppm (Monoglucosid) resp. 800 ppm (Diglucosid) in neutralem Wasser lösen. Das Lösen konnte allerdings nicht direkt mit Wasser, sondern nur unter Zuhilfenahme von wenig Aceton erfolgen, wobei letzteres wieder vollständig entfernt werden konnte.

Die Beständigkeitsversuche in wässriger Lösung zeigten insofern ein interessantes Ergebnis, als sich das Mono- und das Diglucosid in bezug auf den Einfluss der Temperatur und in ihrer Hydrolysebeständigkeit nicht gleich verhielten. Der bei einer wässrigen Monoglucosidlösung gemessene Extinktionswert fällt nach 14 Tagen bei Zimmertemperatur, wie übrigens auch bei 60 und 90°, auf ungefähr 25% seines

Anfangswertes ab. Beim Diglucosid hingegen, das bei 60 und 90° ein analoges Verhalten wie das Monoglucosid zeigt, wird bei Zimmertemperatur eine wesentlich grössere Beständigkeit beobachtet. Der Extinktionskoeffizient fällt in der gleichen Zeitspanne nur um ungefähr 3% ab. In den als Vorversuchen für spätere Arbeiten durchgeführten Untersuchungen über die Hydrolysebeständigkeit erwies sich das Diglucosid sowohl gegenüber der sauren (pH 3) als auch gegenüber der alkalischen (pH 9) Hydrolyse als beständig. Im Gegensatz dazu konnten bei der Hydrolyse des Monoglucosids in beiden pH-Bereichen nach 14 Tagen beträchtliche Mengen Zeaxanthin nachgewiesen werden.

Im weiteren zeigten unsere Untersuchungen, dass weder Licht noch Luftsauerstoff einen messbaren Einfluss auf die Beständigkeit der Glucoside in wässriger Lösung ausüben, fallen doch die gemessenen Extinktionswerte der Proben innerhalb von 14 Tagen gegenüber den entsprechenden Referenzen um weniger als 1% ab.

Diese Arbeit wurde durch die Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.* AG (Basel) unterstützt.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. *H. Thommen* für seine wertvollen Anregungen sowie den Herren Dres. *G. Englert* und *W. Vetter* und den Herren *M. Casagrande* und *W. Meister* für die Aufnahme der NMR.- resp. Massenspektren.

Experimenteller Teil

Reagentien: Das aus natürlichen Quellen gewonnene Zeaxanthin wurde uns freundlicherweise von der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.* AG (Basel) zur Verfügung gestellt. Die α -Acetobromglucose war das käufliche Produkt der *Fluka* AG (Schweiz). Das Silbercarbonat wurde durch Zutropfen einer 0,01 M Lösung von Natriumhydrogencarbonat zu einer 2 M Lösung von Silbernitrat gefällt und anschliessend mit Wasser und Diäthyläther gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Reaktionsbedingungen. In einem 250 ml Schliiff-Erlenmeyerkolben wurden 113,5 mg (0,2 mmol) reines Zeaxanthin in 100 ml trockenem Diäthyläther gelöst. Nach Zugabe von 411,2 mg (1 mmol) α -Acetobromglucose, 275,7 mg (1 mmol) Silbercarbonat, einer Spatelspitze trockenem Calciumsulfat (*Fluka* AG) und nach Begasen mit Argon wurde während 20 Tagen bei -14° und völliger Dunkelheit gerührt.

Trennung. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und direkt auf die Dünnschichtplatten (Kieselgel G nach *Stahl*, Schichtdicke 0,2 mm) aufgetragen. Laufmittel: Benzol/Petroläther/Äthanol 50:50:8.

Verseifung. Die Verseifung erfolgte während 3 Std. in einer Lösung von 10% KOH in Methanol. Anschliessend wurde die methanolische Lösung mehrmals mit Diäthyläther extrahiert.

Kristallisation. Die Kristallisation erfolgte aus Benzol/Methanol (peracetylierte Verbindungen) und Pyridin/Petroläther (verseifte Verbindungen).

Lösen der kristallinen Substanzen in Wasser. Beim Herstellen der wässrigen Lösungen wurden die kristallinen Substanzen in möglichst wenig Aceton gelöst, die zehnfache Menge Wasser zugeben und entweder auf die Hälfte des Volumens, oder bei der Herstellung gesättigter Lösungen bis zum Beginn des Ausfalls der Substanzen, einrotiert.

Durchführung der Beständigkeits- und der Hydrolyseversuche. Für diese Untersuchungen wurde für das Diglucosid eine ungefähr 10^{-4} M (ca. 90 ppm) und für das Monoglucosid eine ungefähr $5 \cdot 10^{-5}$ M (ca. 35 ppm) wässrige Lösung verwendet. Die Extinktionen wurden auf einem *Eppendorf*-Photometer bei 436 nm gemessen. Das Einstellen der pH-Werte 3 und 9 erfolgte durch Zugabe von fester Zitronensäure oder festem Natriumphosphat.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *P. Karrer et al.*, *Helv.* 15, 1399 (1932).
- [2] *R. Kuhn & Yu Wang*, *Ber.* 72, 871 (1939).
- [3] *S. Hertzberg & S. Liaaen-Jensen*, *Phytochemistry* 5, 565 (1966).
- [4] *S. Hertzberg & S. Liaaen-Jensen*, *Phytochemistry* 8, 1281 (1969).

- [5] S. Hertzberg & S. Liaaen-Jensen, *Acta chem. scand.* **21**, 15 (1967).
 [6] K. Schmidt, G. W. Francis & S. Liaaen-Jensen, *Acta chem. scand.* **25**, 2476 (1971).
 [7] H. Kleinig, H. Reichenbach & H. Achenbach, *Arch. Mikrobiol.* **74**, 223 (1970).
 [8] G. Wulff, G. Röhle & W. Krüger, *Chem. Ber.* **105**, 1097 (1972).
 [9] G. Wulff, G. Röhle & W. Krüger, *Chem. Ber.* **105**, 1097–1132 (1972).
 [10] A. J. Aasen, G. W. Francis & S. Liaaen-Jensen, *Acta chem. scand.* **23**, 2605 (1969).
 [11] L. M. Jackman, *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, p. 110, Pergamon, Oxford (1962).
 [12] P. A. Finan, R. I. Reed, W. Snedden & J. M. Wilson, *J. chem. Soc.*, 5945 (1963).

179. Über Pterinchemie

49. Mitteilung [1]

Eine neue Synthese von 5-Formyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin und 5,6,7-Trimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin

von Jost H. Bieri und Max Viscontini

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

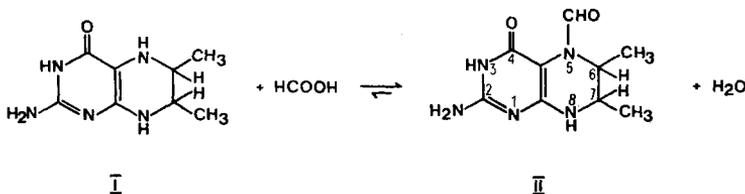
(25. VI. 74)

Summary. Starting with 5-formyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterine (II), a new synthesis of 5,6,7-trimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterine (III) is described. Thereby the chemical behaviour of the 5-formyl group in II is investigated, in order to enable the unequivocal differentiation between formylation at position 5 and at position 10 in folic and tetrahydrofolic acid derivatives. ¹³C-NMR. spectra of II and III are discussed.

Die Bedeutung von 5-Formyl- und 5-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure in biogenetischen Prozessen ist bekannt. (Eine umfassende Übersicht gibt *Blakley* in [2].) Zur Abklärung mechanistischer und stereochemischer Probleme an diesen komplizierten Molekeln erweisen sich Untersuchungen an Modellsubstanzen wie 5-Formyl-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin [3], 5-Formyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin (II) und 5,6,7-Trimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin (III) [4]¹⁾ als von Vorteil.

In der vorliegenden Mitteilung wird das chemische Reaktionsverhalten der 5-Formyl-Gruppierung von II behandelt. Zudem beschreiben wir, ausgehend von II, eine neue Methode zur Darstellung von III.

6,7-Dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin (I) [5] wird in Ameisensäure (98proz.), 10% Essigsäureanhydrid enthaltend, zu II umgesetzt. (Die katalytische Hydrierung von 6,7-Dimethylpterin in Ameisensäure nach [3] erbrachte keine befriedigende Ergebnisse.) Nach 16 Std. (22°) hat sich ein Gleichgewicht zwischen I und II eingestellt.



1) W. Frick, R. Weber & M. Viscontini, *Helv.*, in Vorbereitung.