

102. Über Pterinchemie

80. Mitteilung¹⁾

Die Herstellung von (6*RS*)-Tetra- und (6*RS*)-Pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterinen

von Subhendu Narayan Ganguly und Max Viscontini

Organisch-Chemisches Institut der Universität, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(11. II. 82)

Preparation of (6*RS*)-Tetra- and (6*RS*)-Pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterines

Summary

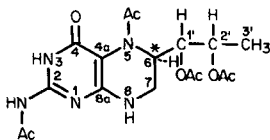
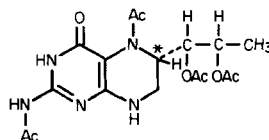
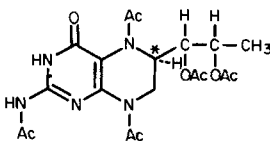
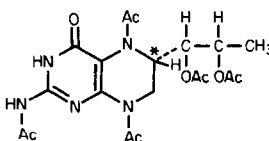
Boiling of (6*RS*)-1'-*O*, 2'-*O*, 2-*N*-triacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine in acetic anhydride as described in [2], leads to a mixture of the diastereoisomeric (6*R*)- and (6*S*)-1'-*O*, 2'-*O*, 2-*N*, 5, 8-pentaacetyl-5,6,7,8-L-biopterines. One of the diastereoisomers can be obtained as pure crystals. It corresponds to the pentaacetate of the natural (6*R*)- or (6*S*)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine. For the preparation of the earlier described (6*RS*)- and (6*S*)-tetraacetyl-tetrahydro-L-biopterines [2] improved conditions are reported.

Als wir versuchten, nochmals das Gemisch von (6*R*)- und (6*S*)-Tetraacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin (**I** + **II**) nach [2] herzustellen, stellten wir fest, dass die genaue Ausführung der angegebenen Vorschrift nicht **I** + **II**, sondern eine Mischung der (6*RS*)-Pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine (**III** + **IV**) ergab. Diese Beobachtung erwies sich jedoch als sehr günstig, da eines der beiden Diastereomeren (**III** oder **IV**) sich aus Methanol isolieren liess und durch Umkristallisation rein erhalten werden konnte. Mikroanalyse, NMR.- und MS.-Spektrum bewiesen eindeutig, dass das Produkt fünffach acetyliert ist. Die Entacetylierung mit 3*N* HCl unter N₂ führte zu (6*R*)- oder (6*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterindihydrochlorid, $[\alpha]_{589}^{22} = -3,8^\circ$, welches nach [2-4] dem natürlichen, enzymatisch gebildeten Produkt entspricht.

Die schon beschriebenen (6*R*)- und (6*S*)-Tetraacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine (**I** und **II**) lassen sich erhalten, wenn man die in [2] angegebenen Bedingungen leicht ändert (siehe *Exper. Teil*).

Wir danken Herrn Dr. J. H. Bieri und Herrn dipl.-chem. S. Antoulas für wertvolle Diskussionen, Herrn H. Frohofer für die Messung der optischen Drehung und

¹⁾ 79. Mitteilung, s. [1].


I (6R)

II (6S)

III (6R)

IV (6S)

die Mikroanalysen, der NMR.-Abteilung (Leitung: Prof. Dr. W. v. Philipsborn) sowie der MS.-Abteilung (Leitung: Prof. Dr. M. Hesse) für die gemessenen Spektren. Der Schweizerische Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung hat diese Arbeit finanziell unterstützt.

Experimenteller Teil

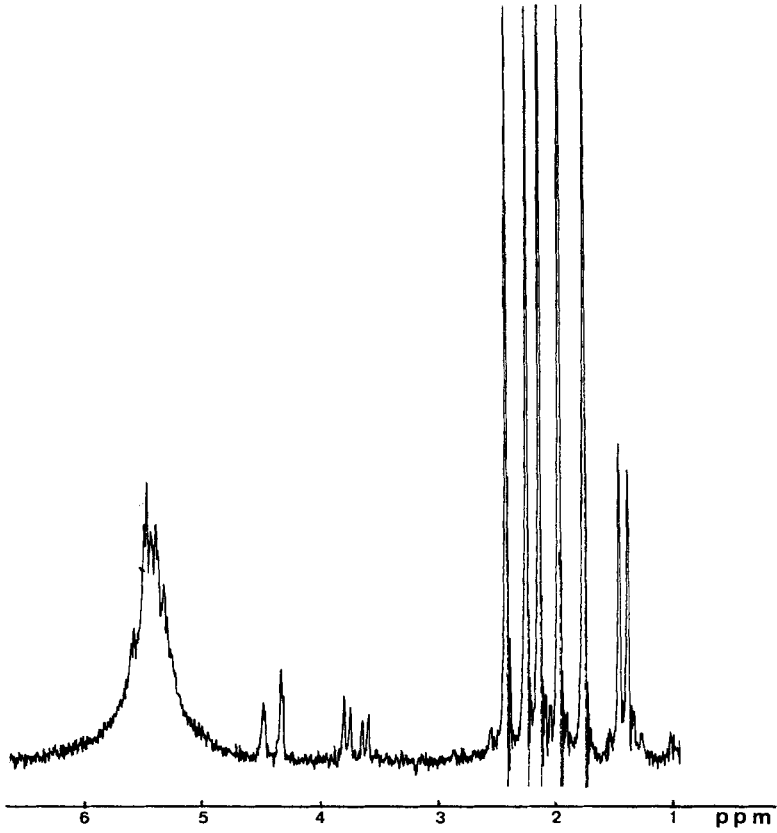
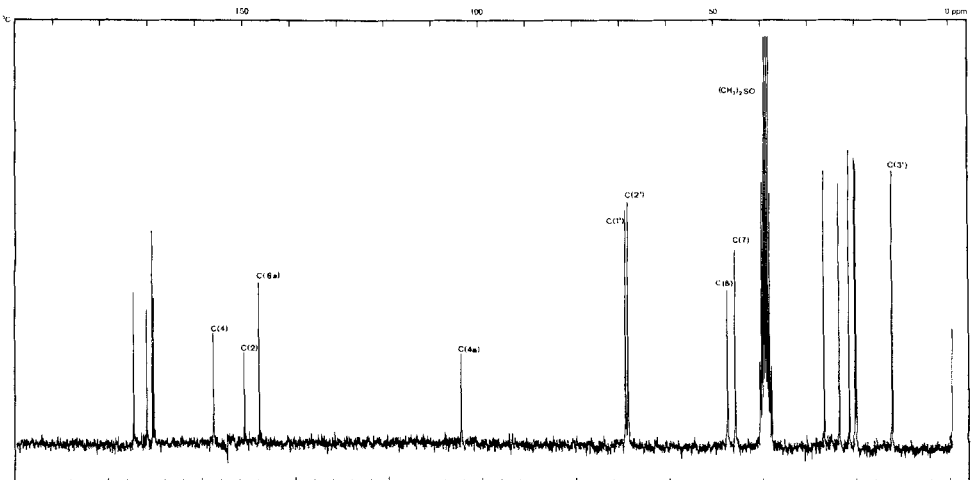
1. Herstellung von (6RS)-1'-O,2'-O,2-N,5,8-pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin (**III** + **IV**). Ein Gemisch aus 1 g (2,27 mmol) (6RS)-1'-O,2'-O,2-N-triacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid [2] und 80 ml Essigsäureanhydrid wurde 60 Min. unter Rückfluss erhitzt und weitere 3 Std. bei 22° gerührt. Die durch Eindampfen als Öl erhaltene Mischung **III** + **IV** wurde in Äthanol aufgenommen und erneut eingedampft. Das Aufnehmen in Äthanol und Eindampfen wurde solange wiederholt, bis die Mischung **III** + **IV** in fester Form ausfiel. Im DC. (CHCl₃/CH₃OH/(R)-1-Phenyläthylamin 9:1:0,5) lassen sich beide Diastereomeren voneinander leicht unterscheiden (UV 254), Rf 0,62 und 0,80²).

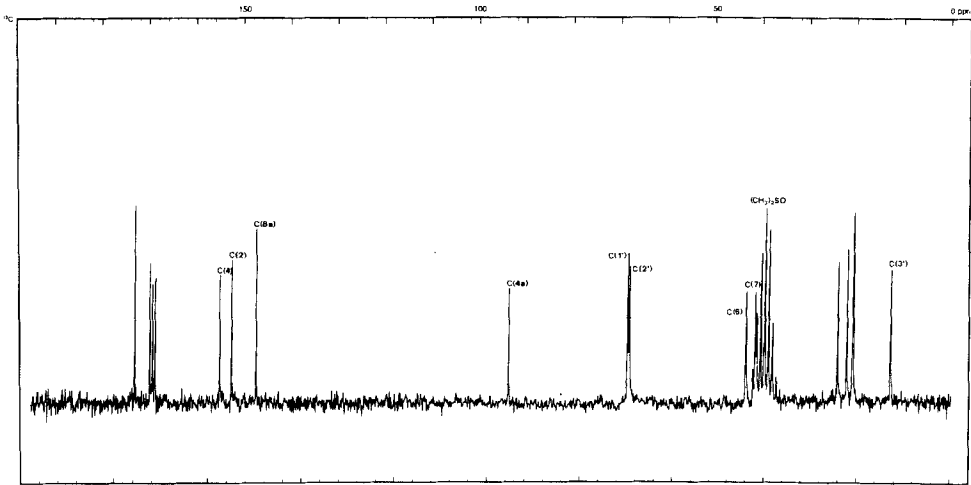
2. Abtrennung von (6R)- oder (6S)-1'-O,2'-O,2-N,5,8-pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin (**III** oder **IV**). Die Lösung von **III** + **IV** in möglichst wenig Methanol (22°) wurde mit Tierkohle entfärbt und 24 Std. bei -5° stehen gelassen, wobei eine Verbindung auskristallisierte, die entweder **III** oder **IV** darstellt. Eine neue Umkristallisation aus Methanol ergab lange, farblose Nadeln (**III** oder **IV**). $[\alpha]_{D}^{25} = -0,5^{\circ}$ ($c = 1,0$, Methanol). - ¹H-NMR. (90 MHz, D₅-Pyridin, Fig. 1): 5,60–5,00 (m, H₂O, H–C(6) und 2H–C(7)); 4,50–4,30 (m, H–C(1')); 3,85–3,60 (m, H–C(2')); 2,40, 2,25, 2,15, 2,0 und 1,80 (5 CH₃CO); 1,45 (d, J = 6, 3H–C(3')). - ¹H-NMR. (90 MHz, (CD₃)₂SO): keine H–N(8)-Resonanz (vgl. [2]); 4,90–4,60 (m, H–C(6) und 2H–C(7)); 4,05–3,80 (m, H–C(1')); 3,50–3,20 (m, H₂O und H–C(2')); 2,50 (m, (CD₃)₂SO, 1 CH₃CO); 2,18 (s, 1 CH₃CO); 2,0 (2s, 2 CH₃CO); 1,80 (s, 1 CH₃CO); 1,15 (d, J = 6 Hz, 3H–C(3')). - ¹³C-NMR.-Spektrum (CD₃)₂SO, Fig. 2): 173,72 (CO–N–C(2)); 170,91 (CO–N(5)); 169,77 (CO–O–C(1') und CO–N(8)); 169,47 (CO–O–C(2')); 156,71 (C(4)); 150,18 (C(2)); 146,92 (C(8a)); 104,07 (C(4a)); 69,21 (C(1')); 68,66 (C(2')); 47,57 (C(6)); 47,56 (C(7)); 27,17

(CH₃–CO–N(8)); 23,89 (CH₃–CO–N(2)); 21,84 (CH₃–CO–N(5)); 20,55 (CH₃–C(=O)–O–C(1')); 20,32 (CH₃–C(=O)–O–C(2')); 12,74 (C(3')). - MS: 451 (2,5, M⁺), 409 (41,7), 367 (12,4), 250 (55,9), 208 (60,3), 166 (27,3), 43 (100). DC. (Polygram Sil N–HR/UV 254) CH₃OH/CHCl₃ 1:9, Rf 0,61.

C₁₉H₂₅N₅O₇ (451,20) Ber. C 50,53 H 5,58 N 15,52% Gef. C 49,83 H 6,02 N 15,51%

²) Wir danken Herrn Dipl.-chem. S. Antoulas für die Durchführung dieser Experimente.

Fig. 1. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **III** (oder **IV**) in D_5 -PyridinFig. 2. $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von **III** (oder **IV**) in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$

Fig. 3. ^{13}C -NMR.-Spektrum von **I** oder **II** in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$

3. Herstellung von (6R)- oder (6S)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid. Die bei 22° hergestellte Lösung von 0,5 g (1,1 mmol) von **III** (oder **IV**) in 50 ml 3N HCl wurde in einem Handschuhkasten (Inertgas: N_2) 4 Tage stehen gelassen und alsdann eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in möglichst wenig 6N HCl gelöst und die Lösung in einer äthanolischen Atmosphäre gehalten (22°). Nach 24 Std. kristallisierte 5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin aus. Filtration, Waschen mit Äthanol und Trocknen ergaben farblose Nadeln. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3,9^\circ$ ($c = 0,72$, H_2O); $-3,8^\circ$ ($c = 0,93$, 0,1N HCl). – ^1H -NMR.-Spektrum (90 MHz, 3N DCl) und ^{13}C -NMR.-Spektrum (1N NaOD) stimmen mit demjenigen des Produktes **VA**·2HCl von [2] überein. Dieses Tetrahydro-L-biopterin ist mit dem enzymatisch erhaltenen 5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin [4] identisch (vgl. ebenfalls [3]).

4. (6R)- oder (6S)-1'-O,2'-O,2-N,5-Tetraacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin (**I** oder **II**). Ein Kolben, der ein Gemisch aus 0,1 g (0,23 mmol) (6RS)-1'-O,2'-O,2-N-Triacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid [2], 10 ml Essigsäureanhydrid und 1 ml Pyridin enthielt, wurde solange im warmen Wasserbad (70°) gehalten, bis eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde 2 Tage bei 22° stehen gelassen, wobei das eine Diastereomere **I** oder **II** in Form weisser Kristalle ausfiel. Umkristallisation aus Methanol. DC. (Polygram Sil N-HR/UV 254, $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$ 9:1), Rf 0,45. – Die ^1H -NMR.-Spektren von **I** oder **II** und von **IV A** [2] erwiesen sich als identisch. – ^{13}C -NMR. ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, Fig. 3): 173,76 (CO–N–C(2)); 170,56 (CO–N(5)); 169,96 (CO–O–C(1')); 169,41 (CO–O–C(2')); 155,68 (C(4)); 153,13 (C(2)); 147,99 (C(8a)); 94,16 (C(4a)); 43,55 (C(6)); 41,60 (C(7)); 24,01

(C–CO–N(2)); 22,08 (C–CO–N(5)); 20,82 (C–CO–OC(2') und C–CO–OC(1')); 12,87 (C(3')). In der Mutterlauge befand sich noch eine Mischung beider Diastereomere **I** und **II** (**IV A** und **IV B** von [2]). Nach deren Aufarbeitung [2] liess sich das zweite Diastereomer **II** oder **I** (**IV B** [2]) ebenfalls kristallin erhalten.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 79. Mitt.: R. Kalbermatten, W. Städeli, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* 64, 2627 (1981).
 [2] H.-J. Furrer, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* 62, 2577 (1979).
 [3] B. Schircks, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* 60, 211 (1977); *ibid.* 61, 2731 (1978).
 [4] S. W. Bailey & J. E. Ayling, *J. Biol. Chem.* 253, 1598 (1978).