

Zum Identitätsnachweis von Coffein im Arzneibuch

1. Mitt.: Imidazo[1,5-*a*]pyrimidinumsalze

H. MÖHRLE und M. WIRTZ

Herrn Prof. Dr. Helmut Stamm zum 75. Geburtstag gewidmet

Seit dem DAB 9 wird für Coffein zur Identitätsprüfung eine spezifische Farbreaktion vorgeschrieben. Nach Literaturangaben soll hierbei zuerst die Verseifung zum Coffeidin erfolgen und dieses mit Acetylaceton das Enaminon ergeben. Modelluntersuchungen zeigen jedoch, daß unter den angegebenen Bedingungen diese Spezies nicht existent ist, sondern vielmehr unter Anellierung ein Kondensationsprodukt vom Imidazo[1,5-*a*]pyrimidintyp entsteht, das als Vorstufe für den Farbstoff fungieren kann.

Concerning the identity test for caffeine in the pharmacopoeia Part 1: Imidazo[1,5-*a*]pyrimidinium salts

Since the edition of the DAB 9 a specific reaction is proposed as identity test for caffeine. According to the literature, at first a hydrolysis to coffeidine occurs with following reaction to the enaminone of acetylaceton. Model experiments however show, that this species is not existing under the stated conditions. Instead, with anellation, a condensation product of the imidazo[1,5-*a*]pyrimidine type occurs. This may be the precursor of the dye.

1. Einleitung

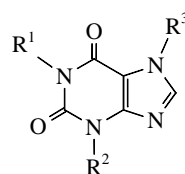
Coffein (1), Theophyllin (2) und Theobromin (3) sind in verschiedenen Pharmakopöen offizinell. Aufgrund ihrer ähnlichen Struktur beschränkten sich die Nachweisreaktionen bis zum DAB 8 neben der Bestimmung der physikochemischen Eigenschaften meist auf Gruppenreaktionen wie die Murexidreaktion. Zur Unterscheidung dieser Xanthinderivate 1–3 wurden Fällungsreaktionen mit Quecksilber(II)-acetat oder Quecksilber(II)-chlorid vorgenommen (Formel 1).

Das DAB 9 führte als spezifischen Nachweis für Coffein eine Farbreaktion ein, die auch in das DAB 10 [1] übernommen wurde. Dabei wird Coffein zunächst mit Natronlauge und Acetylaceton (4) und anschließend mit einer salzsauren Lösung von *p*-Dimethylaminobenzaldehyd (5) erwärmt. Nach dem Abkühlen entsteht auf Zusatz von Wasser eine intensive Blaufärbung. Dieser Nachweis geht auf eine Arbeit von Wachsmuth und van Koeckhoven [2] zurück.

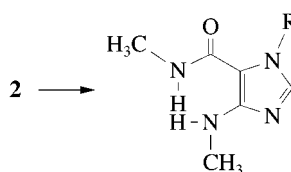
Nach Untersuchungen von Rehse et al. [3] wird im ersten Schritt der Reaktion Coffein zu Coffeidin (6) verseift, das durch Kondensationsreaktionen mit 4 und 5 die farbgebende Komponente liefert. Durch Modifizierung der Reaktion [3] konnte Rehse einen Farbstoff isolieren, dessen Identität mit dem Chromophor der Original-Wachsmuth/van Koeckhoven-Reaktion aufgrund eines Vis-spektroskopischen Vergleichs gesichert schien. Anhand elementaranalytischer sowie NMR- und massenspektroskopischer Daten wurde für den Farbstoff die Struktur 10 postuliert. Danach soll das Coffeidin (6) mit 4 ein offenkettiges Enaminon 7 bilden, das allerdings weder isoliert noch nachgewiesen wurde. Dieses reagiert hypothetisch in saurem Milieu intramolekular zur intermediären Azetiumverbindung 8, aus der unter Ringöffnung das reaktive „Bis-Iminiumsalz“ 9 resultiert. Zwei seiner Methylgruppen kondensieren mit 5 zum farbigen 4-*H*-Imidazoliumsalz 10 (Schema 1).

Bei Theophyllin (2) bleibt die Farbreaktion aus. Hierfür wurde das Fehlen der 7-Substitution verantwortlich gemacht [3], was nach der Verseifung zum Theophyllidin (11) keine Entstehung eines „Bis-Iminium-Salzes“ erlaubt und andererseits den elektrophilen Angriff am Imidazolring des Anions 11a begünstigen soll (Formel 2).

Diese Begründung mußte überraschen, da aus dem Enaminon von 11 nach Cyclisierung zu einer Azetiumverbindung eine erleichterte Ringöffnung unter Prototropie zu erwarten war, die zu einem mesomeriestabilisierten Mono-Iminium-Salz führen sollte. Zum ändern dürfte die Elektrophilie des angewandten Reagenzes kaum ausreichend sein, um die ursprüngliche 8-Position bevorzugt anzugreifen. Darüber hinaus schien beim Coffein-Nachweis unter den angewandten Bedingungen die Azetium-Bildung und die nachfolgende Ringöffnung ohne hydrolytische Spaltung des Imins sehr ungewöhnlich, so daß insgesamt eine Untersuchung der Reaktion wünschenswert erschien.

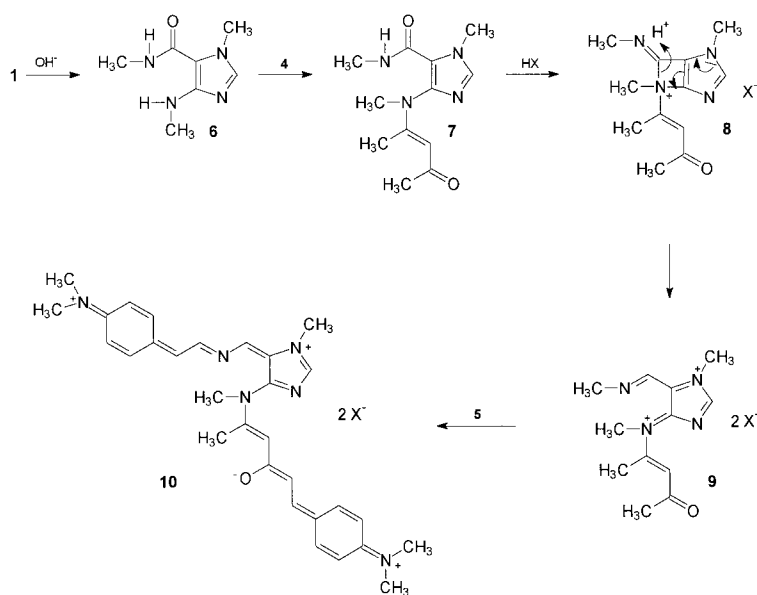


R ¹	R ²	R ³	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	Coffein (1)
CH ₃	CH ₃	H	Theophyllin (2)
H	CH ₃	CH ₃	Theobromin (3)



	R
11	H
11a	⊖

Schema 1



2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. 4-Amino-5-imidazolcarboxamid

Da die Verseifung der Xanthine zu Imidazolderivaten als erster Schritt der Reaktion gesichert ist, boten sich entsprechende heterocyclische Verbindungen als Modellsubstanzen an. Als Coffeidin-ähnliches, nicht methyliertes Molekül wurde das 4-Amino-5-imidazolcarboxamid (**12**) unter den von Rehse angegebenen Bedingungen mit Acetylaceton (**4**) und *p*-Dimethylaminobenzaldehyd (**5**) in Methanol gelöst und anschließend mit Perchlorsäure (70%) bei Raumtemperatur angesäuert. Es schied sich als Reaktionsprodukt aus **12** und **5** das Salz der Schiff'schen Base **13** als orangefarbiger Niederschlag ab.

Auch die Umsetzung von **12** · HCl mit der äquimolaren Menge **5** – ohne Zusatz von **4** und Säure – lieferte **13** · HCl. Aus den Salzen, die bereits in Lösung partiell deprotoniert vorlagen [4], ließ sich die stabile Base freisetzen.

Die β -Dicarbonylverbindung **4** beteiligte sich offensichtlich nicht an der Reaktion, weil sie unter diesen Bedingungen gegenüber dem Imidazol **12** inert ist oder aber die Konkurrenzreaktion mit **5** so schnell abläuft, daß ein grundsätzlich mögliches Produkt praktisch nicht entsteht. Um dies zu klären, wurde die Reaktion ohne Aldehydzusatz wiederholt.

Dabei konnte überraschenderweise das Salz des Imidazo[1,5-*a*]pyrimidins **18** gewonnen werden. Auch die Umsetzung von **12** · HCl mit **4** ohne Säurezusatz ergab (**18**)₂ · HCl. Die Base war aus beiden Salzen zu erhalten und eindeutig zu charakterisieren. Offenbar ist hier ein offenkettiges Enaminon nicht zu isolieren, vielmehr erfolgt durch Kondensation unter Anellierung eine Stabilisierung. Dies bestätigte sich als allgemeine Verhaltensweise auch mit einer Reihe anderer symmetrisch substituierter β -Dicarbonylverbindungen, wobei sich die entsprechenden Basen und Salze von **18**–**22** in befriedigenden Ausbeuten darstellen ließen (Schema 2).

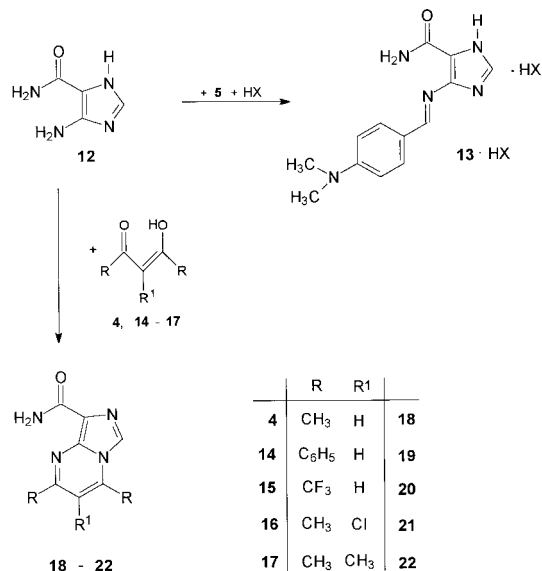
Aufgrund dieser Ergebnisse erhob sich die Frage, ob eine Umsetzung von **18** mit dem Aldehyd **5** zu einem Farbstoff möglich ist. Ohne Säurezusatz verhielt sich **18** gegenüber **5** – auch in der Hitze – inert. Nach Ansäuern färbte sich

der Ansatz unter Erwärmung sofort, bei Raumtemperatur erst nach einer Woche rotbraun. Der Niederschlag bestand aus einem Produktgemisch, das nicht getrennt werden konnte.

Diese grundsätzliche Möglichkeit einer Reaktion regte eine Umsetzung von **12** nach der Standardmethode an, wobei der Niederschlag aus **13** · HX nicht abgetrennt, sondern 10 Tage bei Raumtemperatur im Ansatz belassen wurde. Nach dieser Zeit war die Schiff'sche Base nicht mehr nachweisbar, jedoch zeigten sich neben **18** und einem Kondensationsprodukt aus Acetylaceton (**4**) und *p*-Dimethylaminobenzaldehyd (**5**) orange-fluoreszierende Substanzen, die den Farbprodukten der vorhergehenden Versuche entsprachen.

Dies belegte, daß bei der Kondensation zu **13** eine Gleichgewichtsreaktion vorliegt, die sich durch Bildung stabilerer Produkte auf die Seite ihrer Ausgangsverbindung **12** verschieben läßt (Schema 3).

Schema 2



2.2. Theophyllidin

Theophyllidin (**11**) war ebenfalls einer Umsetzung mit Acetylaceton (**4**) in Methanol unter Zusatz von Perchlorsäure (70%) zugänglich. Bei Raumtemperatur oder in der Wärme resultierte bereits nach 15 min ein gelbgrüner Niederschlag. Nach beendeter Reaktion konnte das erwartete Imidazo[1,5-*a*]-pyrimidinium-perchlorat **23** · ClO₄ in 70% Ausbeute erhalten werden (Schema 4).

Eine systematische Variierung der Versuchsbedingungen ergab folgende Befunde: Bei Umsatz von **11** · HCl mit **4** ohne Säure läßt sich das Produkt nicht isolieren. Gleichioniger Zusatz durch Natriumchlorid oder Erniedrigung des pH-Wertes mit Salzsäure beeinflussen die Löslichkeit nicht. Durch Reduzierung der Lösungsmittelmenge kann zunächst Edukt und anschließend in geringerer Ausbeute das gewünschte Produkt als Chlorid (**23** · Cl) gewonnen werden. Fügt man jedoch Perchlorationen in Form des Natriumsalzes hinzu, gelingt die Isolierung von **23** · ClO₄ sowohl aus dem ursprünglichen als auch aus dem angesäuerten Ansatz in 80% Ausbeute. Offensichtlich handelt es sich bei der Kondensation um eine Gleichgewichtsreaktion, die in wäßrig-methanolischem Milieu nur deshalb zu guten Ergebnissen führt, weil aufgrund der extrem schlechten Löslichkeit des Perchlorats ein Reaktionspartner ständig entzogen und so das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschoben wird.

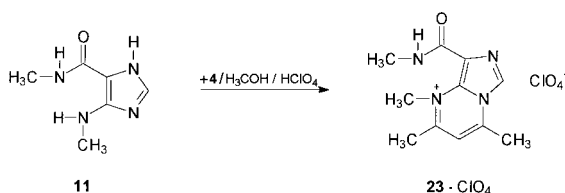
Zur Vermeidung der Rückreaktion erfolgte die Umsetzung in wasserfreiem Milieu. Dazu wurde **11** in Eisessig gelöst und mit Acetylaceton (**4**) und 1N-Perchlorsäure in Eisessig versetzt, wonach **23** · ClO₄ spontan ausfiel und sowohl aus Methanol als auch als Acetonitril/Ether in einer Ausbeute von 72% analysenrein gewonnen werden konnte.

In methanolischer Lösung bewirkte der Austausch von Perchlorsäure durch Tetrafluoroborsäure eine geringere Ausbeute an Tetrafluoroborat **23** · BF₄. Wurde der Ansatz mit

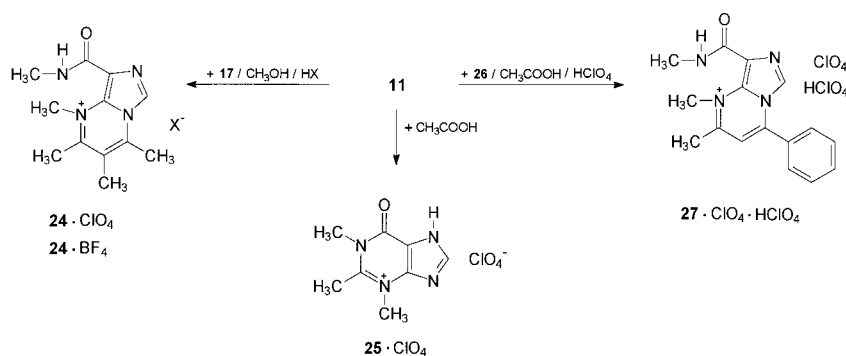
Schema 3



Schema 4



Schema 5



Trifluoressigsäure durchgeführt, konnte bei Raumtemperatur lediglich Theophyllidintrifluoacetat (**11** · CF₃COOH) isoliert werden. Bei erhöhter Temperatur geht dieses Salz zwar in Lösung, jedoch kann das gewünschte Kondensationsprodukt nur dc nachgewiesen werden. Die Isolierung gelang wiederum nur durch Zusatz von Natriumperchlorat. Entsprechendes Verhalten beobachtete man auch, wenn **11** · CF₃COOH mit **4** umgesetzt wurde, wobei die Zugabe von Trifluoressigsäure ebenfalls keine Veränderung brachte.

Beim Wechsel zu dem apolaren aprotischen Lösungsmittel Toluol bleibt die Reaktion völlig aus und dc sind nur die Edukte sichtbar.

Mit 3-Methyl-2,4-pentandion (**17**) bildete **11** ebenfalls die Imidazo[1,5-*a*]pyrimidiniumverbindung, die sowohl als Perchlorat **24** · ClO₄ wie auch als Tetrafluoroborat **24** · BF₄ gewonnen wurde.

Bei den β-Diketonen **14**–**16** versagte die Reaktion mit **11**. Die Umsetzung in absolutem Acetonitril mit 1N-Perchlorsäure in Eisessig führte durch Etherzusatz lediglich zur Puriniumverbindung **25** · ClO₄, die auch aus einem Ansatz ohne β-Dicarbonylverbindung erhalten wurde.

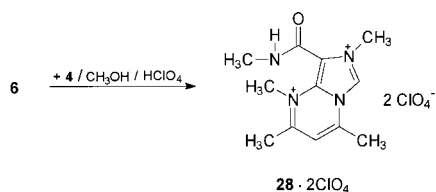
Benzoylaceton (**26**), als unsymmetrisches β-Diketon, lieferte mit **11** in wasserfreiem essigsäurem Milieu überraschenderweise die einheitliche Imidazo[1,5-*a*]pyrimidinium-Verbindung **27** · ClO₄ · HClO₄, während dies aus methanolischer Lösung nicht möglich war (Schema 5).

2.3. Coffeidin

Coffeidin (**6**) ergab mit Acetylaceton (**4**) in methanolischer Lösung bei Raumtemperatur Coffeidinperchlorat (**6** · HClO₄), nach Erhitzen wurde jedoch das bisquartäre Imidazo[1,5-*a*]pyrimidinium-diperchlorat (**28** · 2 ClO₄) generiert. Bei der DC auf Kieselgel- und Aluminiumoxid-Schichten zersetzte sich diese Verbindung schnell. Zur Detektion wurde mit einer ethanolischen Lösung von *p*-Dimethylaminobenzaldehyd besprüht, wobei **28** · 2 ClO₄ als blaues Derivat sichtbar gemacht und in dem Ansatz neben den Edukten nachgewiesen werden konnte (Schema 6).

Das ¹H-NMR-Spektrum von **28** · 2 ClO₄ in Acetonitril-*d*₃ weist drei Signale für einzelne Protonen aus, von denen zwei als Singulets – bei δ = 9.58 ppm für 6-H und bei δ = 7.55 ppm für 3-H – erscheinen. Das dritte Proton bei δ = 7.74 ppm entspricht als breites, mit D₂O austauschbares Signal dem Amid-NH. Die zugehörige Methylgruppe bildet bei δ = 3.03 ppm ein Dublett, das sich nach Austausch zum Singulett vereinfacht. Den Signalen bei δ = 4.20 und 4.17 ppm sind die Methylgruppen an N-1 und N-7 zuzuordnen, wobei eine ¹H-¹³C-Korrelation die

Schema 6



Aussage erlaubt, daß die Methylgruppe an N-7 tieffeldiger in Resonanz tritt als diejenige an N-1. Die verbleibenden Methylgruppen an C-2 und C-4 entsprechen schließlich den Signalen bei $\delta = 2.96$ und 2.92 ppm.

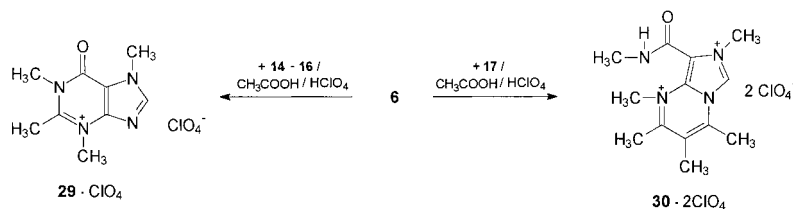
In Analogie zum Theophyllidin (**11**) wurde die Synthese auch unter wasserfreien Bedingungen in Eisessig bzw. absolutem Acetonitril unter Zusatz von 1 N HClO₄/Eisessig vorgenommen. Während **28 · 2 ClO₄** in Eisessig spontan ausfiel, ist es in Acetonitril gut löslich und konnte mit Diethylether gefällt und durch entsprechende Umfällung gereinigt werden. Die Umsetzung in Eisessig mit etherischer Tetrafluoroborsäure ließ zwar gemäß dem DC **28 · 2 BF₄** entstehen, wie durch Detektion mit **5** nachzuweisen war, jedoch gelang die Isolierung aufgrund der geringen Kristallisationsneigung nicht. Wurde der Ansatz mit Bromwasserstoffsäure in Eisessig ausgeführt, resultierte durch Etherzusatz ein Öl, woraus nach einiger Zeit **28 · 2 Br** kristallisierte, das sich aber als sehr hygroscopisch und instabil erwies.

Der Versuch, Coffeidin (**6**) mit den β -Diketonen **14–16** umzusetzen, scheiterte sowohl in Methanol als auch in wasserfreiem Acetonitril und Eisessig. In Eisessig entstand nach längerer Zeit lediglich das Puriniumperchlorat **29 · ClO₄**. Die Reaktion mit 3-Methyl-2,4-pentandion (**17**) gelang in Methanol ebenfalls nicht und ergab lediglich Coffeidinperchlorat; in Eisessig dagegen konnte das Imidazo[1,5-*a*]pyrimidiniumperchlorat **30 · 2 ClO₄** in 67% Ausbeute erhalten werden. Im ¹H-NMR-Spektrum traten ähnlich wie bei der Theophyllidinverbindung **24 · X** doppelte Signalsätze von Rotameren auf. Außerdem waren bereits vor dem D₂O-Austausch Signale des Coffeidins zu erkennen. Dies beweist, daß **30 · 2 ClO₄** in Lösung noch instabiler ist als das Acetylacetonprodukt **28 · 2 ClO₄** und erklärt auch, warum **30 · 2 ClO₄** aus methanolischer bzw. Acetonitrillösung nicht isoliert werden kann (Schema 7).

2.4. Stabilität der Anellierungsprodukte

Bereits die Umsetzungen von 4-Amino-5-imidazolcarboxamid (**12**) und Theophyllidin (**11**) mit β -Dicarbonylverbindungen hatten sich mechanistisch als Kondensationsreaktionen erwiesen. Dabei zeigte sich, daß das Gleichgewicht in Lösung bei der Bildung schwerlöslicher Produkt-Salze zu einer Erhöhung der Ausbeute führt, wogegen bereits vorhandenes oder mit zunehmendem Fortgang der Reaktion entstehendes Wasser eine Verschiebung auf die Seite der Edukte bewirkt.

Schema 7



Da bei **28 · 2 ClO₄** schon durch D₂O-Zusatz im NMR-Spektrum die Signale des Edukts Coffeidin (**6**) auftraten, war die Untersuchung der Stabilität gegenüber Wasser gerade hier angezeigt. Dazu boten die unterschiedlichen Absorptionsmaxima für Coffeidin und **28 · 2 ClO₄** von $\lambda_{\text{max}} = 287$ bzw. 242 nm eine Basis für die UV-spektroskopische Diskriminierung an.

28 · 2 ClO₄ wurde in Acetonitril mit unterschiedlichen Wassergehalten gelöst und zeitabhängig vermessen. Während 1% Wasser noch keinen deutlichen Effekt verursachte, führte ein Wassergehalt von 10% nach 150 min zu einer Abnahme der Intensität des Maximums bei 242 nm und zu einer Zunahme der Intensität bei 287 nm. Nach 4 Tagen konnte die Hydrolyserate zu 15% bestimmt werden.

Um das Verhalten unter extremen Bedingungen zu prüfen, wurde eine Meßreihe mit 98% Wasser angeschlossen, die bereits nach 2 min eine deutliche Hydrolyse erkennen ließ. Diese sistierte schließlich nach 30 min bei nachfolgend unverändertem UV-Spektrum, das ein Gleichgewicht mit starkem Überwiegen der Edukte indizierte. Durch Superposition der Kurven konnte ein isobestischer Punkt bei 264 nm ermittelt werden.

Gleichartige Untersuchungen an Theophyllidin (**11**) und **23 · ClO₄** ergaben dagegen, daß dieses Kondensationsprodukt gegenüber Wasser deutlich stabiler ist. Auch bei einem Wassergehalt der Lösung von 98% konnte nach 6 h keine Rückreaktion zu **11** beobachtet werden.

Vergleicht man die Reaktivität von 4-Amino-5-imidazolcarboxamid (**12**), Theophyllidin (**11**) und Coffeidin (**6**) bei der Umsetzung mit β -Dicarbonylverbindungen, so wird deutlich, daß die Bildung der anellierten Heterocyclen nicht nur von der Aktivität der Elektrophile, sondern in größerem Ausmaß von der Stabilität des Produkts abhängig ist. Letztere nimmt bei den Imidazo[1,5-*a*]pyrimidiniumsalzen mit zunehmender Ladung ab. Die Bildung des ungeladenen Imidazo[1,5-*a*]pyrimidins verläuft glatt, da ein Ausgleich zwischen dem elektronenreichen Imidazolring und der elektronenärmeren Pyrimidinstruktur erfolgen kann, ähnlich wie dies bei den Purinen der Fall ist. In der Theophyllidinreihe gelingt die Umsetzung zwar nur bei den weniger aktivierten β -Dicarbonylverbindungen, aber die positive Ladung kann sich über das gesamte Ringsystem verteilen, so daß eine hohe Stabilität erreicht wird. Bei den Coffeidinprodukten sind in den Dikationen die Mesomeriemöglichkeiten stark eingeschränkt, die Verbindungen dadurch energiereicher und damit ihre Bildungswahrscheinlichkeit geringer. Gleichzeitig wird durch die höhere Ladungsdichte der Angriff von Nucleophilen und damit auch die Hydrolyse erleichtert.

2.5. Etofyllidin und Diprophyllidin

Nach den bisherigen Ergebnissen ist eine Substitution in Position 7 der Xanthine bzw. in 1-Stellung ihrer Abbauprodukte für die Anellierungsreaktion weder essentiell

noch prohibitiv. Deshalb wurde erwartet, daß sowohl Etofyllidin (**31**) als auch Diprophyllidin (**32**) mit Acetylaceton (**4**) ein Imidazo[1,5-*a*]pyrimidiniumsalz bilden. Die bei Coffeidin (**6**) erprobten Verfahren brachten jedoch aufgrund der durch die große Polarität erhöhten Löslichkeit und Hydrophilie der Produkte keinen Erfolg. Da ließen sich aus jedem Ansatz die erwarteten Derivate durch Detektion mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd-Lösung als blaue Farbprodukte nachweisen, die Isolierung gelang aber auch durch Zusatz unpolarer Lösungsmittel nicht. Aus den Versuchen in Methanol wurde überhaupt kein festes Produkt erhalten. Die wasserfreien Ansätze in Acetonitril führten zur Ausfällung hellgelb gefärbter Öle, die sich bei Hochvakuumtrocknung verfestigten, hingegen schon unter Normalbedingungen zersetzten. Einzig aus Essigsäure konnte ein Etofyllidin-Acetylaceton-Produkt **33** · 2 ClO₄ erhalten werden. Das war jedoch zu erreichen, weil die OH-Gruppe unter diesen Bedingungen langsam acetyliert und dadurch die Löslichkeit verringert wurde (Schema 8).

Die gezielte Synthese dieser acetylierten Imidazo[1,5-*a*]pyrimidiniumsalze unter Zusatz von Acetanhydrid verlief wiederum nur bei Etofyllidin (**31**) erfolgreich. Bei Diprophyllidin (**32**) konnte der Nachweis des reaktiven Produkts zwar durchgeführt werden, eine Isolierung war aber nicht möglich.

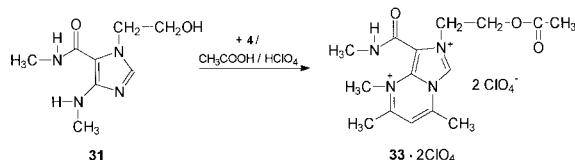
Bei dem Versuch der Acetylierung der Imidazolbasen **31** und **32** trat – mit 4-Dimethylaminopyridin als Katalysator – neben der Veresterung auch die Amidbildung der sekundären Aminfunktion ein, so daß die Produkte **34** und **35** mit **4** erwartungsgemäß nicht mehr reagierten (Schema 9).

2.6. 1-Methyl-4-methylamino-imidazol

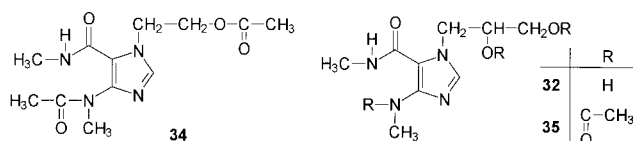
Die bisherigen Ergebnisse ließen vermuten, daß für die Bildung der Imidazo[1,5-*a*]pyrimidiniumverbindungen die Amidgruppe bei den Imidazol-Edukten nicht essentiell ist. Zur Überprüfung eignete sich ein Derivat des Coffeins, bei dem die Amidseitenkette eliminiert wurde.

Frühere Arbeiten, die sich mit der Synthese von 4-Aminoimidazol z. B. durch Reduktion von 4-Nitroimidazol mit Natriumamalgam befaßten [6], führten nicht zu stabilen Produkten. Von Matusch [7] wurde durch Abbau von Coffein ein neuartiger Weg zur Bildung von 4-methylamino-substituierten Imidazolen beschrieben; Binnewies [8] ging

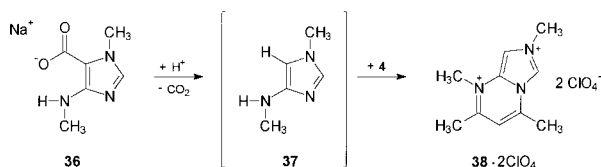
Schema 8



Schema 9



Schema 10



dazu direkt von Coffeidin (**6**) aus. Das entstehende Natriumsalz der 1-Methyl-4-methylamino-imidazol-5-carbonsäure (**36**) decarboxylierte bei der Neutralisation zum gewünschten Produkt **37**, wobei die Ausbeute mit 12 bzw. 13% angegeben wurde.

In eigenen Untersuchungen erwies sich die praktische Durchführung dieser Reaktionsfolge im Hinblick auf die Gewinnung von Reinsubstanzen als problematisch. Dem weißen Niederschlag von **36**, der im Massenspektrum die erwarteten Fragmente C₅H₈N₃ bzw. C₅H₉N₃ der Decarboxylierungsprodukte zeigte, hafteten immer noch größere Mengen Alkali an. Das bei der Neutralisation von **36** direkt unter Decarboxylierung entstehende Imidazol **37** war zersetzlich und konnte deshalb nicht in ausreichender Ausbeute dargestellt werden. Deshalb wurde in die Umsetzungen, die ohnehin unter Säureüberschuß ablaufen, die Vorstufe **36** eingesetzt, die in situ **37** freisetzt, das sofort abregieren kann.

Tatsächlich lieferte die rohe Substanz **36** in Acetonitril mit Acetylaceton (**4**) und 1 N HClO₄ bei Raumtemperatur nach der Fällung mit Ether das Produkt **38** · 2 ClO₄, das aus Acetonitril/Ether umgefällt werden konnte. Die Ausbeute war mit 47% derjenigen bei Coffeidin vergleichbar (Schema 10).

Insgesamt deuten alle Befunde darauf hin, daß die Verseifungsprodukte von Xanthenen und verwandten Substanzen mit β -Dicarbonylverbindungen nicht die postulierte offenkettige Enaminonstruktur bilden, sondern zu den beschriebenen Imidazo[1,5-*a*]pyrimidinen reagieren. Diese stellen wahrscheinlich die Vorstufen für die Bildung der blauen Farbstoffe dar, welche für den Nachweis von Purinabbau-Produkten verantwortlich sind.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Schmp.: Gallenkamp-Apparatur, unkorrigiert. Elementaranalysen: Analysator 2400 Perkin-Elmer; die Ergebnisse lagen bei den beschriebenen Verbindungen innerhalb der üblichen analytischen Grenzen. IR-Spektren: Perkin-Elmer IR-Spektralphotometer 177 und FT 1600. ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren: Varian FT-80A, Bruker AM 200 und AMX 500; chemische Verschiebungen in ppm nach der δ_{TMS} -Skala; * Zuordnung austauschbar; Kopplungskonstanten in Hz. Massenspektren: Finnigan 3500 und 4000, Ionisierungsenergie 70 eV. UV/VIS-Spektren: UV/VIS-Spektralphotometer Perkin-Elmer Lambda 16; λ [nm], (log ϵ). DC: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck); Fließmittel (FM): FM 1 = CHCl₃/EtOH (90:10), FM 2 = Diisopropylether (100), FM 3 = MeOH/2 M NH₃/1 M NH₄NO₃ (70:20:10), FM 4 = CH₂Cl₂/Isopropanol (90:10); Detektion: a) UV-Lösung (254 nm), b) Besprühen mit 5 proz. Lösung von *p*-Dimethylaminobenzaldehyd in Salzsäure (20%), anschließend mit Essigsäure und ggf. Erwärmen. Weitere experimentelle Angaben, insbesondere spektroskopische Daten vgl. Lit. [4].

3.2. Umsetzung der Imidazolbasen mit β -Dicarbonylverbindungen (AAV 1)

a) Die Imidazolbase wird in 50 ml MeOH gelöst, mit der doppelmolaren Menge der β -Dicarbonylverbindung sowie ggf. mit Säure versetzt und bei der angegebenen Temperatur gerührt. Entsteht ein Niederschlag, wird er abgetrennt und umkristallisiert, ansonsten wird mit Ether das Produkt ausgefällt.

b) Die Imidazolbase wird in 30 ml Eisessig gelöst und mit der β -Dicarbonylverbindung sowie mit 1 N HClO₄/Eisessig versetzt. Man läßt bei Raumtemperatur stehen und isoliert nach 30 min den entstandenen Niederschlag. Umkristallisation aus CH₃CN/Ether.

c) Die Imidazolbase wird in 30 ml abs. CH₃CN gelöst und mit der β -Dicarbonylverbindung und 1 N HClO₄/Eisessig versetzt. Nach DC-Kontrolle mit Detektion b), die das Produkt anzeigt, wird mit absol. Ether bis zur anhaltenden Trübung versetzt. Die entstehenden Nadeln werden abgetrennt und aus CH₃CN/Ether umgefällt.

3.3. Freisetzung der Basen (AAV 2)

Das Salz wird in H₂O gelöst, mit 10 proz. NaHCO₃-Lösung auf pH 8 eingestellt und mit CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die Extrakte werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert.

3.4. 1-Methyl-4-methylamino-imidazol-5-N-methylcarboxamid = Coffeinid (6)

Darstellung nach Lit. [9]: Weiße Kristalle aus Ether. Schmp. 90 °C (Lit. [9] 93 °C). Ausb. 3,2 g (36%). Rf = 0,25 (FM 1). MS (50 °C): m/z (%) = 168 (58; M⁺), 138 (19), 110 (23), 109 (22), 82 (32), 69 (14), 67 (21), 58 (14), 55 (31), 42 (100). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 7,34 (s, 1 H, 2-H); 6,97 (q, 1 H, H₃CNHCO, ³J = 4,5, aust.); 5,42 (q, 1 H, H₃CNH-, ³J = 5,1, aust.); 3,70 (s, 3 H, 1-CH₃); 2,77 (d, 3 H, H₃CNH-, nach D₂O-Aust. s); 2,71 (d, 3 H, H₃CNHCO, nach D₂O-Aust. s). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 161,69 (CO); 153,22 (C-4); 137,71 (C-2); 105,82 (C-5); 33,89 (1-CH₃); 29,95 (H₃CNH-); 25,62 (H₃CNHCO). Zuordnung durch ¹H/¹H-, ¹H/¹³C-COSY- und ¹H/¹³C-COLOC-Spektrum. UV (CH₃CN): λ_{max} = 207 (4,09) 287 (3,93). C₇H₁₂N₄O (168,2)

Perchlorat (6 · HClO₄): 0,5 g (2,97 mmol) **6** werden in 15 ml Eisessig gelöst und mit 30 ml 0,1 N HClO₄/Eisessig versetzt. Die Kristalle werden abgetrennt und mit Ether gewaschen. Weiße Kristalle aus MeOH. Schmp. 220 °C (Lit. [9] 220–221 °C). Ausb. 0,7 g (88%). C₇H₁₂N₄O · HClO₄ (268,7)

Hydrosulfat (6 · H₂SO₄): 0,5 g (2,97 mmol) **6** werden in 20 ml MeOH gelöst. Nach Zusatz von 0,5 ml konz. H₂SO₄ fällt ein Niederschlag aus. Weiße Kristalle aus MeOH. Schmp. 221 °C (Zers.). Ausb. 0,7 g (88%). C₇H₁₃N₄O⁺HSO₄⁻ (266,3)

Nitrat (6 · HNO₃) nach Lit. [9]: Weiße kubische Kristalle aus Wasser. Schmp. 216 °C (Lit. [9] 215 °C). C₇H₁₂N₄O · HNO₃ (231,2)

Tetrafluorborat (6 · HBF₄): 4,3 g (25,6 mmol) **6** werden in 30 ml MeOH gelöst und mit HBF₄ in Ether bis zur sauren Reaktion versetzt. Der Niederschlag wird abgetrennt. Weiße Kristalle aus MeOH/Ether. Schmp. 222–225 °C. Ausb. 5,8 g (88%). C₇H₁₂N₄O · HBF₄ (256,0)

Hydrochlorid (6 · HCl): 0,5 g (2,97 mmol) **6** werden in 20 ml MeOH gelöst und mit 2 ml konz. HCl versetzt. Auf Etherzusatz fällt das Produkt aus. Weiße Kristalle aus Methanol/Ether. Schmp. 220 °C. Ausb. 0,3 g (49%). C₇H₁₂N₄O · HCl (190,6)

3.5. 4-Methylamino-imidazol-5-N-methylcarboxamid = Theophyllidin (11)

Darstellung nach Lit. [7] aus **2**. Schmp. 177 °C (Lit. [7] 178 °C). MS (130 °C): m/z (%) = 154 (100; M⁺), 124 (35), 123 (26), 96 (39), 95 (43), 68 (64), 59 (64), 53 (55), 42 (91). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 11,89 (s br, 1 H, 1-H, aust.); 7,33 (s br, 1 H, H₃CNHCO, aust.); 7,18 (s, 1 H, 2-H); 5,89 (d, 1 H, H₃CNH-, ³J = 5,1, aust.); 2,82 (d, 3 H, H₃CNH-, nach D₂O-Aust. s); 2,69 (d, 3 H, H₃CNHCO, ³J = 4,8, nach D₂O-Aust. s). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 164,21 (CO); 147,22 (C-4); 128,9 (C-2); 109,02 (C-5); 30,55 (H₃CNH-); 24,95 (H₃CNHCO). UV (CH₃CN): λ_{max} = 239 sh (3,74), 279 (4,11). C₆H₁₀N₄O (154,2)

Hydrochlorid (11 · HCl): 10 g (55,5 mmol) **2** werden in 50 ml 50 proz. KOH bis zur Lösung erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das ausgefallene Theophyllidincarbonsäure-Kaliumsalz abfiltriert, in Wasser gelöst und mit konz. HCl bis pH 1 versetzt. Der neue Niederschlag wird abgetrennt. Weißes Pulver aus Methanol. Schmp. 204 °C. Ausb. 5,2 g (49%). C₆H₁₀N₄O · HCl (190,6)

Trifluoressigsäure (11 · CF₃COOH): 1,5 g (9,73 mmol) **11** werden mit 1,14 g (10 mmol) Trifluoressigsäure in 20 ml MeOH 1 h bei Raumtemp. gerührt. Der Niederschlag wird abgetrennt. Weiße Nadeln aus MeOH. Schmp. 185 °C. Ausb. 2,3 g (88%). C₆H₁₀N₄O · CF₃COOH (268,2)

Perchlorat (11 · HClO₄): 0,5 g (3,24 mmol) **11** werden in MeOH gelöst und mit 70 proz. Perchlorsäure gesättigtem Ether bis zur sauren Reaktion versetzt. Die Fällung wird durch Zusatz von Ether vervollständigt. Weiße Kristalle aus MeOH/Ether. Schmp. 206 °C. Ausb. 0,8 g (96%). C₆H₁₀N₄O · HClO₄ (254,6)

3.6. 4-Amino-5-imidazolcarboxamid (12)

0,2 g (1,23 mmol) **12** · HCl (Janssen; Schmp. 251 °C) werden in Wasser suspendiert, mit 5 proz. NaHCO₃-Lösung auf pH 6–7 eingestellt und mit CHCl₃/Isopropanol (3 : 1) extrahiert. Die über Na₂SO₄ getrockneten Extrakte werden einrotiert: Farbloses Öl, das im Hochvakuum erstarrt. Schmp. 121 °C. Ausb. 0,1 g (64%). C₄H₆N₄O · H₂O (144,1)

3.7. 4-[(4-Dimethylaminobenzyliden)-amino]-imidazol-5-carboxamid (13)

1,6 g (9,84 mmol) **12** · HCl werden in 50 ml MeOH mit 1,49 g (9,98 mmol) *p*-Dimethylaminobenzaldehyd (**5**) versetzt und 5 min erhitzt.

Der Niederschlag wird abfiltriert, in H₂O aufgenommen und mit 5 proz. NaHCO₃-Lösung auf pH 8 eingestellt. Es wird mehrfach mit CHCl₃/Isopropanol (3 : 1) ausgeschüttelt, die vereinigten Extrakte werden über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Gelbes Pulver aus *n*-Propanol. Schmp. 290 °C (Zers.). Ausb. 1,2 g (47%). IR (KBr): 3325, 3134, 2896, 1652, 1613, 1526, 1490, 1574, 1547 cm⁻¹. MS (280 °C): m/z (%) = 257 (81; M⁺), 240 (51), 239 (62), 225 (27), 211 (16), 196 (16), 185 (19), 159 (78), 149 (54), 148 (100), 143 (46), 121 (35), 95 (95), 92 (32), 83 (43), 77 (38), 69 (62), 67 (30), 64 (57), 58 (86). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 12,77 (s, 1 H, 1-H, aust.); 8,99 (s, 1 H, 2-H); 7,99 (d, 1 H, HNCO, ²J = 2,8, aust.); 7,78 (d, 2 H, 2'-H, 6'-H, ⁷J = 8,9); 7,65 (d, 1 H, N=CH); 7,54 (d, 1 H, HNCO, aust.); 6,80 (d, 2 H, 3'-H, 5'-H); 3,03 (s, 6 H, N(CH₃)₂). Nach D₂O-Zusatz treten zusätzlich Signale der Edukte auf. UV (CH₃CN): λ_{max} = 220 (4,03), 251 (4,03), 324 (3,81), 384 (4,52). C₁₃H₁₅N₅O (257,3)

Perchlorat (13 · HClO₄): 1,26 g (10 mmol) **12** werden in 10 ml MeOH gelöst und mit 3,75 g (25 mmol) **5** und 1 ml 70 proz. HClO₄ 3 h bei Raumtemp. gerührt. Der Niederschlag wird abgetrennt. Orangefarbiges Pulver. Schmp. 199 °C (Zers.). Ausb. 2,8 g (78%). Bei der Umkristallisation in MeOH wird teilweise die Base freigesetzt. UV/VIS (CH₃CN/CF₃COOH): λ_{max} = 222 (3,98), 265 (4,01), 314 (3,60), 450 (4,54), 468 (4,54). C₁₃H₁₅N₅O · HClO₄ (357,8)

3.8. 8-Carbamoyl-2,4-dimethyl-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-perchlorat (18 · HClO₄)

Nach AAV 1a: 1,2 g (9,5 mmol) **12** 2,0 g (19,98 mmol) **4**, 1 ml 70 proz. HClO₄, 2,5 h erhitzen. Weiße Nadeln aus MeOH. Schmp. 259 °C. Ausb. 2,0 g (72%). IR (KBr): 3418, 3367, 3149, 3074, 2967, 1664, 1609, 1542, 1502 cm⁻¹. MS (250 °C): m/z = 190 (100; M⁺), 174 (91), 162 (43), 146 (22), 134 (85), 119 (22), 108 (63), 78 (17), 67 (24), 44 (70). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 9,5 (s br, 1 H, HN, aust.); 9,31 (s, 1 H, 6-H); 7,8 (s br, 1 H?, NH aust., gemittelttes Signal mit H₂O und NH⁺?); 7,11 (d, 1 H, 3-H); 2,69 (d, 3 H, 4-CH₃, ⁴J = 1,0); 2,61 (s, 3 H, 2-CH₃). C₉H₁₀N₄O · HClO₄ (290,7)

Bis-Hydrochlorid [(18)₂ · HCl]: 1,5 g (9,23 mmol) **12** · HCl werden mit 2,0 g (19,98 mmol) **4** in 50 ml MeOH 2,5 h erhitzt. Beim Erkalten fällt ein Niederschlag aus. Weißes Pulver aus MeOH. Schmp. 275 °C. Ausb. 1,7 g (88%). (C₉H₁₀N₄O)₂ · HCl (416,8)

Base (18): Nach AAV 2: Aus a) 0,5 g **18** · HClO₄ und b) 0,3 g (18)₂ · HCl. Gelbe Nadeln aus MeOH. Schmp. 303 °C (Zers.). Ausb. a) 0,3 g (92%); b) 0,2 g (79%). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,34 (s, 1 H, 6-H); 7,63 (s br, 1 H, NH, aust.); 7,26 (s br, 1 H, NH, aust.); 6,80 (d, 1 H, 3-H); 2,66 (d, 3 H, 4-CH₃, ⁴J = 1,0); 2,52 (s, 3 H, 2-CH₃). C₉H₁₀N₄O (190,2)

3.9. Bis-(2,4-diphenyl-imidazo[1,5-a]pyrimidin-8-carboxamid)-perchlorat [(19)₂ · HClO₄]

Nach AAV 1a: 2 g (9,5 mmol) **12**, 4,5 g (20,1 mmol) 1,3-Diphenyl-1,3-propanolion (**14**), 1 ml 70 proz. HClO₄. Der Ansatz wird 2 h erhitzt, dabei fällt eine gummiartige Masse aus, die noch in der Hitze abfiltriert wird. Der Rückstand wird in Ether gerührt und dabei kristallin. Gelbes Pulver aus EtOH. Schmp. 293 °C (Zers.). Ausb. 2,0 g (57%). IR (KBr): 3434, 3340 br, 3158, 3060, 1673, 1635, 1603, 1576, 1490 cm⁻¹. MS (270 °C): m/z (%) = 314 (24; M⁺), 298 (17), 296 (41), 286 (24), 258 (33), 232 (64), 216 (31), 214 (21), 204 (17), 189 (52), 165 (28), 140 (29), 129 (62), 128 (45), 115 (41), 104 (66), 102 (86), 89 (41), 83 (48), 77 (76), 76 (66), 67 (31), 63 (47), 58 (100), 55 (72). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,63 (s, 1 H, 6-H); 8,38 (dd, 2 H, arom. H); 8,00 (dd, 2 H, arom. H); 7,77 (s, 1 H, 3-H); 7,70 (dd, 3 H, arom. H); 7,61 (dd, 3 H, arom. H); 4,95 (s br, 3 H?, H₂N, aust., gemittelttes Signal mit H₂O- und NH⁺?). (C₁₉H₁₄N₄O)₂ · HClO₄ (729,2)

Base (19): Aus **19** · HClO₄ nach AAV 2. Schmp. 222 °C. C₁₉H₁₄N₄O (314,4)

3.10. 8-Carbamoyl-2,4-bis-(trifluormethyl)-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-perchlorat (20 · HClO₄)

Nach AAV 1a: 1,2 g (9,5 mmol) **12**, 4,2 g (20,2 mmol) 1,1,1,5,5,5-Hexafluoro-2,4-pentandion (**15**), 1 ml 70 proz. HClO₄, 2 h erhitzen. Weißes Pulver aus EtOH/Ether. Schmp. 268 °C. Ausb. 1,6 g (42%). IR (KBr): 3441, 3166, 3161, 3076, 1697, 1616, 1555 cm⁻¹. MS (210 °C): m/z (%) = 298 (73; M⁺), 270 (2), 262 (2), 243 (2), 216 (12), 147 (4), 132 (3), 127 (4), 113 (3), 106 (3), 100 (11), 83 (8), 75 (8), 69 (100). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,85 (q, 1 H, 3-H, ⁴J_{H/F} = 1,7); 8,00 (s, 1 H, 6-H); 7,56 (s br, 1 H, HN, aust.); 5,37 (s br, 2 H?, HN, aust., gemittelttes Signal mit H₂O und NH⁺?). C₉H₄F₆N₄O · HClO₄ (398,6)

Base (**20**): Aus **20** · HClO₄ nach AAV 2. Gelbe Nadeln aus Wasser. Schmp. 151 °C. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,85 (q, 1 H, 3-H, ⁴J_{H/F} = 1,8); 8,00 (s, 1 H, 6-H); 7,64/7,58 (d' br, 2 H, H₂N, aust.). C₉H₄F₆N₄O · H₂O (316,2)

3.11. 8-Carbamoyl-3-chlor-2,4-dimethyl-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-perchlorat (**21** · HClO₄)

Nach AAV 1a: 1,2 g (9,5 mmol) **12**, 2,7 g (20,1 mmol) 3-Chlor-2,4-pentandion (**16**), 1 ml 70 proz. HClO₄, 2 h erhitzen. Weißes Pulver aus MeOH. Schmp. 260 °C. Ausb. 1,4 g (43% als Monohydrat). IR (KBr): 3400 s br, 3365, 3132, 2958, 2922, 2788, 2674, 2614, 1682, 1601, 1539, 1514 cm⁻¹. MS: m/z (%) = 224 (10; M⁺), 208 (6), 196 (5), 168 (7), 144 (7), 142 (6), 130 (6), 118 (6), 105 (4), 91 (4), 77 (6), 67 (8), 65 (9), 63 (7), 51 (11), 44 (100), 40 (19). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,93 (s, 1 H, 6-H); 8,0–7,1 (s br, 1 H?, HN, aust.); 5,57 (s br, 1 H?, HN, aust., gemittelttes Signal mit H₂O); 2,80 (s, 3 H, 4-CH₃); 2,67 (s, 3 H, 2-CH₃). Signal für NH⁺ nicht sichtbar. C₉H₉ClN₄O · HClO₄ · H₂O (343,1)

Base (**21**): Aus 0,9 g **21** · HClO₄ nach AAV 2: Es wird mit CHCl₃/Isopropanol (3:1) extrahiert. Gelbe Nadeln aus MeOH. Schmp. 305 °C (Zers.). Ausb. 0,45 g (72%). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,45 (s, 1 H, 6-H); 7,54 (s br, 1 H, NH, aust.); 7,31 (s br, 1 H, NH, aust.); 2,79 (s, 3 H, 4-CH₃); 2,62 (s, 3 H, 2-CH₃). C₉H₉ClN₄O (224,7)

3.12. 8-Carbamoyl-2,3,4-trimethyl-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-perchlorat (**22** · HClO₄)

Nach AAV 1a: 1,2 g (9,5 mmol) **12**, 2,28 g (19,97 mmol) 3-Methyl-2,4-pentandion (**17**), 1 ml 70 proz. HClO₄, 2 h erhitzen. Weißes Pulver aus MeOH. Schmp. 241 °C. Ausb. 2,2 g (72% als Monohydrat). IR (KBr): 3577 br, 3407, 3184, 2496–2600, 1665, 1601, 1540 cm⁻¹. MS (230 °C): m/z (%) = 204 (17; M⁺), 188 (1), 186 (15), 177 (17), 161 (15), 148 (18), 122 (61), 90 (24), 85 (15), 83 (36), 69 (27), 67 (100), 53 (67), 51 (55). ¹H-NMR (CD₃CN): δ (ppm) = 9,05 (s, 1 H, 6-H); 7,65 (s br, 1 H, HN, aust.); 6,74 (s br, 1 H, HN, aust.); 5,39 (s br, ?, NH⁺, H₂O?); 2,70 (s, 3 H, 4-CH₃); 2,69 (s, 3 H, 2-CH₃); 1,96 (s, 3 H, 3-CH₃). C₁₀H₁₂N₄O · HClO₄ · H₂O (322,7)

Base (**22**): Nach AAV 2 aus 0,5 g **22** · HClO₄. Gelbes Pulver aus H₂O. Schmp. 341 °C (Zers.). Ausb. 0,2 g (63%). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,32 (s, 1 H, 6-H); 7,62 (s br, 1 H, HN, aust.); 7,23 (s br, 1 H, HN, aust.); 2,66 (s, 3 H, 4-CH₃); 2,55 (s, 3 H, 2-CH₃); 2,25 (s, 3 H, 3-CH₃). C₁₀H₁₂N₄O (204,2)

3.13. 1,2,4-Trimethyl-8-(N-methylcarbamoyl)-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-perchlorat (**23** · ClO₄)

α) Nach AAV 1a: 1,5 g (9,73 mmol) **11**, 2,0 g (19,97 mmol) **4**, 1 ml 70 proz. HClO₄. A) 2 h bei Raumtemp. rühren. B) 1/2 h erhitzen. β) Nach AAV 1b: 0,1 g (0,65 mmol) **11**, 0,13 g (1,3 mmol) **4**, 1 ml 1 N HClO₄/Eisessig, 1/2 h bei Raumtemp. stehenlassen. Grüngelbe Nadeln aus MeOH bzw. CH₃CN/Ether. Schmp. 217 °C. Ausb. α) 2,2 g (71%) (A); 2,0 g (65%) (B). β) 0,15 g (72%). IR (KBr): 3485, 3374, 3123, 3049, 2932, 1653, 1555, 1516 cm⁻¹. MS: m/z (%) = 219 (7; Kation, M⁺), 218 (100), 204 (12), 187 (23), 174 (61), 168 (6), 159 (23), 154 (4), 147 (22), 133 (4), 119 (3), 107 (4), 94 (8), 80 (5), 67 (44), 65 (39), 56 (26), 53 (30). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,90 (s, 1 H, 6-H); 8,77 (q, 1 H, H₃CNHCO, ³J = 4,7, aust.); 7,46 (s, 1 H, 3-H); 4,60 (s, 3 H, 1-CH₃); 2,92 (s, 3 H, 2-CH₃*, aust.); 2,87 (s, 3 H, 4-CH₃*, aust.); 2,82 (d, 3 H, H₃CNHCO, nach D₂O-Aust. s). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 164,45 (CO); 161,31 (C-8a?); 151,74 (C-2?); 128,73 (C-4?); 127,29 (C-6); 120,74 (C-8?); 111,34 (C-3); 41,75 (1-CH₃); 26,17 (H₃CNHCO); 21,26 (2-CH₃*); 18,08 (4-CH₃*). UV (CH₃CN): λ_{max} = 240 (4,42), 245 (4,41), 265 sh (4,16), 282 sh (3,96), 293 sh (3,79), 316 (3,45). C₁₁H₁₅N₄O⁺ClO₄⁻ (318,7)

Chlorid (**23** · Cl): Nach AAV 1a: 0,95 g (4,98 mmol) **11** · HCl, 1,0 g (9,99 mmol) **4**, bei Raumtemp. rühren. Nach Einengen wird durch fraktionierte Kristallisation das Produkt erhalten. Gelbe Nadeln aus Ethanol. Schmp. 192 °C (Zers.). Ausb. 0,4 g (29%). C₁₁H₁₅N₄O⁺Cl⁻ · H₂O (272,7)

Tetrafluorborat (**23** · BF₄): Nach AAV 1a: 0,75 g (4,86 mmol) **11**, 1,0 g (9,99 mmol) **4**, 2 ml 35 proz. HBF₄, 5 h erhitzen. Gelbe Kristalle aus MeOH/Ether. Schmp. 201–204 °C. Ausb. 0,87 g (58%). C₁₁H₁₅N₄O⁺BF₄⁻ (306,1)

3.14. 1,2,3,4-Tetramethyl-8-(N-methylcarbamoyl)-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-perchlorat (**24** · ClO₄)

Nach AAV 1a: 0,75 g (4,86 mmol) **11**, 1,14 g (9,99 mmol) 3-Methyl-2,4-pentandion (**17**), 0,5 ml 70 proz. HClO₄, 3 h erhitzen. Gelbe Kristalle aus

EtOH. Schmp. 270 °C (Zers.). Ausb. 0,8 g (50%). IR (KBr): 3384, 3128, 3056, 2931, 1662, 1621, 1544, 1516 cm⁻¹. MS (220 °C): m/z (%) = 233 (2, Kation, M⁺), 232 (6), 218 (9), 188 (53), 174 (15), 168 (19), 161 (21), 154 (8), 148 (21), 138 (9), 136 (11), 122 (25), 109 (14), 95 (13), 83 (26), 67 (76), 57 (100), 50 (71). ¹H-NMR (DMSO-d₆): Rotamere im Verhältnis 90:10: δ (ppm) = 8,93 (s, 0,9 H, 6A-H); 8,77 (q, 1 H, H₃CNHCO, ³J = 4,8, aust.); 7,46 (s, 0,1 H, 6B-H); 4,67 (s, 2,7 H, 1A-CH₃); 4,60 (s, 0,3 H, 1B-CH₃); 2,94 (s, 2,7 H, 2A-CH₃*, aust.); 2,92 (s, 0,3 H, 2B-CH₃*?, aust.); 2,87 (s, 0,3 H, 4B-CH₃*?, aust.); 2,85 (s, 2,7 H, 4A-CH₃*?, aust.); 2,83 (d, 3 H, H₃CNHCO, nach D₂O-Aust. s); 2,39 (s, 2,7 H, 3A-CH₃). B-Form einer Methylgruppe ist möglicherweise durch DMSO-Signal überlagert.

C₁₂H₁₇N₄O⁺ClO₄⁻ (332,7)

Tetrafluorborat (**24** · BF₄): Nach AAV 1a: 0,75 g (4,86 mmol) **11**, 1,14 g (9,99 mmol) **4**, 2 ml 35 proz. HBF₄, 6 h erhitzen. Gelbe Kristalle aus EtOH. Schmp. 196 °C (Zers.). Ausb. 0,58 g (37%). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 165,24 (CO); 161,55 (C-8a?); 148,13 (C-2?); 128,00 (C-4?); 126,97 (C-6); 120,41 (C-8?); 117,22 (C-3?); 43,14 (1-CH₃); 26,23 (H₃CNHCO); 19,26 (2-CH₃*); 16,44 (4-CH₃*); 14,27 (3-CH₃). C₁₂H₁₇N₄O⁺BF₄⁻ (320,1)

3.15. 1,2,3-Trimethyl-6-oxo-1 H-purinium-perchlorat (**25** · ClO₄)

0,46 g (3,0 mmol) **11** werden in 10 ml absol. CH₃CN gelöst, mit 6 ml 1 N HClO₄/Eisessig versetzt und 4 h auf 80 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird bis zur verschwindenden Trübung mit absol. Ether versetzt. Es fällt ein helles Öl aus, das nach Wochen auskristallisiert. Farblose Kristalle aus MeOH. Schmp. 245 °C (Zers.). Rf = 0,5 (FM 3). Ausb. 0,5 g (60%). IR (KBr): 3564, 3421, 3120, 3079, 2954, 2880, 1718, 1619, 1562, 1516 cm⁻¹. MS: m/z (%) = 179 (8; Kation, M⁺), 178 (27), 164 (25), 149 (1), 135 (6), 121 (4), 108 (6), 94 (6), 82 (15), 68 (14), 67 (23), 56 (90), 50 (32), 44 (100). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 14,9–14,5 (s br, 1 H, 7-H, aust.); 8,57 (s, 1 H, 8-H); 4,09 (s, 3 H, 3-CH₃); 3,71 (s, 3 H, 1-CH₃); 2,93 (s, 3 H, 2-CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 160,91 (C-6); 151,25 (C-2*); 146,65 (C-4*); 143,82 (C-8); 112,94 (C-5); 36,29 (3-CH₃); 32,75 (1-CH₃); 18,95 (2-CH₃). Zuordnung durch ¹H-¹³C-COSY und Vergleich mit **29** und 1,3,7-Trimethyl-6-oxo-1 H-purinium-nitrat [5] gesichert.

C₈H₁₁N₄O⁺ClO₄⁻ (278,7)

3.16. 1,2-Dimethyl-8-(N-methylcarbamoyl)-4-phenyl-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-diperchlorat (**27** · ClO₄ · HClO₄)

Nach AAV 1b: 0,4 g (2,59 mmol) **11**, 0,84 g (5,12 mmol) Benzoylacetone (**26**), 6 ml 1 N HClO₄/Eisessig. Nach 1 h wird mit Ether ein Niederschlag ausgefällt. Gelbes Pulver aus Eisessig/Ether. Schmp. 204 °C (Zers.). Ausb. 0,2 g (20,3%). IR (KBr): 3307, 3132, 3091, 3038, 2970, 2925, 2855, 1661, 1647, 1597, 1550, 1518 cm⁻¹. MS (230 °C): m/z (%) = 281 (15; Kation, M⁺), 280 (76), 266 (26), 250 (53), 237 (26), 236 (87), 235 (42), 223 (23), 222 (26), 209 (59), 194 (23), 128 (36), 127 (27), 104 (57), 102 (25), 77 (38), 67 (33), 44 (100). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,80 (s br, 2 H, 6 H, NHCH₃ aust.); 7,96–7,71 (m, 5 H, arom. H); 7,69 (s, 1 H, 3-H); 6,40 (s br, 1 H?, NH⁺ aust., gemittelttes Signal mit H₂O); 4,64 (s, 3 H, 1-CH₃); 2,95 (s, 3 H, 2-CH₃); 2,85 (d, 3 H, NH-CH₃, nach D₂O-Aust. s). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 165,04 (CO); 161,36 (C-8a); 149,98 (C-2); 133,19 (C-4); 129,73/128,22 (2 arom. C); 129,66/128,98 (je 2 arom. C); 127,43 (C-6); 121,10 (C-8); 111,82 (C-3); 41,92 (1-CH₃); 26,23 (NHCH₃); 21,35 (2-CH₃). Zuordnung der Methylgruppe zu C-2 durch NOESY.

C₁₆H₁₇N₄O · ClO₄ · HClO₄ (481,2)

3.17. 1,2,4,7-Tetramethyl-8-(N-methylcarbamoyl)-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-diperchlorat (**28** · 2 ClO₄)

α) Nach AAV 1a: 0,5 g (2,97 mmol) **6**, 1,0 g (10 mmol) **4**, 1 ml 70 proz. HClO₄, 2 h erhitzen. Produkt nach dem Erkalten mit Ether ausfällen. β) Nach AAV 1b: 0,5 g (2,97 mmol) **6**, 0,6 g (5,99 mmol) **4**, 60 ml 0,1 N HClO₄/Eisessig. γ) Nach AAV 1c: 0,5 g (2,97 mmol) **6**, 0,6 g (5,99 mmol) **4**, 6 ml 1 N HClO₄/Eisessig. Gelbe Nadeln aus CH₃CN/Ether. Schmp. 256 °C. Ausb. α) 0,70 g (54%); β) 0,47 g (36%); γ) 0,78 g (60%). IR (KBr): 3329, 3155, 3123, 3080, 3029, 2949, 1689, 1663, 1605, 1572, 1554, 1526 cm⁻¹. MS (230 °C, Zers.): m/z = 168 (1), 138 (1), 109 (2), 102 (9), 100 (23), 85 (19), 83 (57), 69 (17), 67 (50), 57 (46), 52 (19), 44 (100). ¹H-NMR (CD₃CN): δ (ppm) = 9,58 (s, 1 H, 6-H); 7,74 (s br, 1 H, H₃CNHCO, aust.); 7,55 (s, 1 H, 3-H); 4,20 (s, 3 H, 7-CH₃); 4,17 (s, 3 H, 1-CH₃); 3,03 (d, 3 H, H₃CNHCO, ³J = 5,0, nach D₂O-Aust. s); 2,96 (s, 3 H, 2-CH₃*); 2,92 (s, 3 H, 4-CH₃*). ¹³C-NMR (CD₃CN): δ (ppm) = 171,10 (CO); 155,97 (C-8a?); 152,76 (C-2?); 129,14 (C-6); 127,93 (C-4?); 119,26 (C-8?); 117,07 (C-3); 41,97 (1-CH₃); 38,61 (7-CH₃); 27,90 (H₃CNHCO); 23,20 (2-CH₃*); 18,89 (4-CH₃). Multiplizitäten und Kopplungskonstanten aus Gated-Decoupling-Spektrum; Zuordnung der Methin-C-Atome und der Amidmethylgruppe durch ¹H/¹³C-COSY. UV (CH₃CN): λ_{max} = 244 (4,41), 278 sh (3,88), 325 (3,43). C₁₂H₁₈N₄O²⁺ · 2 ClO₄⁻ (433,2)

Dibromid (**28** · 2 Br): Nach AAV 1b: 0,5 g (2,97 mmol) **6**, 0,6 g (5,99 mmol) **4**, 2 ml 35 proz. HBr. Nach 30 min wird Ether zugesetzt; es fällt ein farbloses Öl aus, das nach 3 d im Kühlschrank auskristallisiert. Schmp. 130 °C (Zers.). Ausb. 0,6 g (51%). ¹H-NMR (CD₃CN): δ (ppm) = 10,20 (s, 1H, 6-H), 9,53 (s br, 1H, H₃CNHCO, aust.); 7,56 (s, 1H, 3-H); 4,28 (s, 3H, 7-CH₃); 4,21 (s, 3H, 1-CH₃); 3,00 (d, 3H, H₃CNHCO, ³J = 4,9); 2,97 (s, 3H, 2-CH₃); 2,95 (s, 3H, 4-CH₃). C₁₂H₁₈N₄O²⁺ · 2 Br⁻ (394,1)

3.18. 1,2,3,7-Tetramethyl-6-oxo-1H-purinium-nitrat (29 · NO₃)

Analog Lit. [5] werden 1,7 g (7,35 mmol) **6** · HNO₃ mit 9 ml (72 mmol) Orthoessigsäuretrimethylester 75 min auf dem Wasserbad erhitzt. Der Niederschlag wird abfiltriert. Weiße Kristalle aus EtOH/Ether. Schmp. 181 °C. Rf = 0,7 (FM 3). Ausb. 1,0 g (51%). IR (KBr): 3435, 3068, 3038, 2958, 1728, 1646, 1618, 1562 cm⁻¹. MS: m/z (%) = 193 (17; Kation, M⁺), 192 (80), 178 (3), 163 (10), 150 (10), 136 (8), 122 (9), 109 (7), 96 (25), 82 (20), 77 (4), 67 (29), 56 (100), 55 (67), 54 (31), 46 (87). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8,54 (s, 1H, 8-H); 4,06 (s, 3H, 3-CH₃); 4,04 (s, 3H, 7-CH₃); 3,96 (s, 3H, 1-CH₃); 2,93 (s, 3H, 2-CH₃). C₉H₁₃N₄O⁺NO₃⁻ · 0,5 H₂O (264,2)

Perchlorat (**29** · ClO₄): α) 0,5 g (1,9 mmol) **29** · NO₃ werden in 20 ml MeOH gelöst und mit 70 proz. HClO₄ versetzt. Auf Zusatz von Ether bilden sich weiße Nadeln. β) 0,5 g (2,97 mmol) **11** werden in 10 ml absol. CH₃CN gelöst und mit 6 ml 1 N HClO₄/Eisessig versetzt. Man rührt einige Tage bei Raumtemp. und gibt dann Ether zu. Das gewonnene Öl kristallisiert nach längerer Zeit aus. Weiße Kristalle aus EtOH/Ether. Schmp. 216 °C. Ausb. α) 0,4 g (72%); β) 0,3 g (35%). C₉H₁₃N₄O⁺ClO₄⁻ (292,7)

3.19. 1,2,3,4,7-Pentamethyl-8-(N-methylcarbamoyl)-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-diperchlorat (30 · 2 ClO₄)

Nach AAV 1b: 0,5 g (2,97 mmol) **6**, 1,1 g (9,6 mmol) 3-Methyl-2,4-pentandion (**17**), 60 ml 0,1 N HClO₄/Eisessig. Hellgelbe Nadeln aus Acetonitril/Ether. Schmp. 243 °C (Zers.). Ausb. 0,9 g (67%). IR (KBr): 3326, 3150, 3113, 3074, 2948, 1682, 1655, 1597, 1558, 1520 cm⁻¹. MS: m/z (%) = 194 (10), 179 (8), 168 (47), 149 (4), 138 (19), 136 (12), 124 (6), 109 (35), 82 (40), 69 (17), 67 (53), 57 (46), 55 (58), 44 (93), 42 (100). ¹H-NMR (CD₃CN): in Lösung liegt ein Gemisch aus Salzen von **6** und **30** im Verhältnis 12:88 vor; **30** bildet zusätzlich ein Rotamerengemisch aus **30A** und **30B**. δ (ppm) = 9,58 (s, 0,1H, 6-H **30B**); 9,51 (s, 0,9H, 6-H **30A**); 8,04 (s, 0,14H, 2-H **6**); 7,72 (s br, 0,9H, H₃CNHCO **30A**, aust.); 7,55 (s, 0,1H, H₃CNHCO **30B**, aust.); 6,3 (s br, 0,14H, H₃CNHCO **6** aust.); 4,23 (s, 2,7H, 7-CH₃ **30A**); 4,20 (s, 0,3H, 7-CH₃ **30B**); 4,18 (s, 3H, 1-CH₃ **30A** und **30B**); 3,89 (s, 0,42H, 1-CH₃ **6**); 3,02 (d, 3H, H₃CNHCO **30A** und **30B**, ³J = 4,9, nach D₂O-Aust. s); 2,96 (s, 0,3H, 2-CH₃ **30B**); 2,94 (s, 2,7H, 2-CH₃ **30A**); 2,92 (s, 0,42H, H₃CNH **6**); 2,90 (s, 3H, 4-CH₃ **30A** und **30B**); 2,83 (d, 0,42H, H₃CNHCO **6**, ³J = 4,5, nach D₂O-Aust. s); 2,50 (s, 3H, 3-CH₃ **30A** und **30B**). C₁₃H₂₀N₄O²⁺ · 2 ClO₄⁻ (447,2)

3.20. 1-(2-Hydroxyethyl)-4-methylamino-imidazol-5-N-methylcarboxamid = Etofyllidin (31)

α) 1 g (3,83 mmol) **31** · HNO₃ [10] werden in 3 ml 30 proz. Na₂CO₃-Lösung gelöst und 15 mal mit je 10 ml CHCl₃ sowie 5 mal mit je 10 ml CHCl₃/Isopropanol (3:1) ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeignet. β) 10 g (44,6 mmol) Etofyllin werden in 30 ml 30 proz. NaOH unter Rühren bei 50 °C gelöst. Nach Ansäuern mit konz. HNO₃ bis pH 1 wird mit 30 proz. Na₂CO₃-Lösung auf pH 7–8 eingestellt und mit CHCl₃, unter wiederholter Erneuerung des Extraktionsmittels, 3 d perforiert. Beim Einrotieren fällt Etofyllidin (**31**) aus.

Weißes Pulver aus Methanol/Ether. Schmp. 128 °C (Lit. [11] 129 °C). Ausb. α) 0,5 g (67%); β) 5 g (57%). IR (KBr): 3366, 3297, 3172, 3126, 2987, 2957, 2921, 1624, 1585, 1562, 1504 cm⁻¹. MS (140 °C): m/z (%) = 198 (45; M⁺), 180 (14), 168 (11), 154 (12), 140 (10), 138 (10), 124 (60), 109 (23); 95 (100), 83 (21), 68 (45), 67 (36), 58 (40), 45 (63). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 7,35 (s, 1H, 2-H); 7,21 (q, 1H, H₃CNHCO, ³J = 4,5, aust.); 5,32 (q, 1H, H₃CNH-, ³J = 5,1, aust.); 5,06 (t, 1H, CH₂OH, ³J = 5,2, aust.); 4,16 (t, 2H, CH₂CH₂OH, ³J = 5,2); 3,58 (q', 2H, CH₂CH₂OH, ³J = 5,2); 2,76 (d, 3H, H₃CNH-, nach D₂O-Aust. s); 2,70 (d, 3H, H₃CNHCO, nach D₂O-Aust. s). C₈H₁₄N₄O₂ (198,2)

Nitrat (**31** · HNO₃): 10 g (44,6 mmol) Etofyllin werden in 30 ml 30 proz. NaOH bei Raumtemp. gelöst. Anschließend wird mit konz. HNO₃ bis pH 1 versetzt. Nach Einengen im Vakuum wird der Niederschlag abgetrennt, in MeOH aufgeköcht und heiß filtriert. Aus dem Filtrat fällt das Produkt aus, das sich an der Luft rosa verfärbt. Weiße Nadeln aus MeOH. Schmp. 157 °C (Lit. [11] 164 °C). Ausb. 6,1 g (52%). C₈H₁₄N₄O₂ · HNO₃ (261,2)

Perchlorat (**31** · HClO₄): 0,45 g (2,27 mmol) **31** werden in EtOH gelöst und mit HClO₄ gesättigtem Ether bis zur anhaltenden Trübung versetzt. Im

Kühlschrank fällt ein Niederschlag aus. Weiße Kristalle aus MeOH/Ether. Schmp. 132 °C. Ausb. 0,54 g (80%). C₈H₁₄N₄O₂ · HClO₄ (298,7)

3.21. 1-(2,3-Dihydroxypropyl)-4-methylamino-imidazol-5-N-methylcarboxamid = Diprophyllidin (32)

10 g (39,3 mmol) Diprophyllin werden in 20 ml 30 proz. NaOH unter Rühren gelöst. Nach 2 h wird mit HNO₃ angesäuert, dann mit 30 proz. Na₂CO₃-Lösung auf pH 8 eingestellt und mit CHCl₃, unter wiederholter Erneuerung des Extraktionsmittels, mehrere Tage perforiert. Weißes Pulver aus MeOH/Ether. Schmp. 138 °C. Ausb. 3,6 g (40%). IR (KBr): 3342, 3116, 2945, 2893, 1606 br, 1579, 1544 cm⁻¹. MS (140 °C): m/z (%) = 229 (10), 228 (83; M⁺), 211 (4), 210 (3), 198 (7), 197 (10), 179 (6), 170 (28), 166 (43), 154 (39), 140 (43), 138 (30), 124 (91), 123 (48), 111 (61), 109 (48), 98 (89), 97 (57), 96 (56), 95 (52), 83 (35), 68 (43), 58 (43), 42 (100). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 7,33 (s, 1H, 2-H); überlagert von 7,34 (q', 1H, H₃CNHCO, aust.); 5,39 (q, 1H, H₃CNH-, ³J = 5,0, aust.); 5,32 (d, 1H, 2'-OH, ³J = 5,2, aust.); 4,80 (t, 1H, 3'-OH, ³J = 5,6, aust.); 4,29 (dd, 1H, 1'-H_A, ²J_{A/B} = 14,0, ³J_{A/M} = 3,3); 3,93 (dd, 1H, 1'-H_B, ³J_{B/M} = 7,7); 3,74–3,61 (m, 1H, 2'-H_M); 3,20–3,33 (td', 2H, 3'-H_C, 3'-H_D, ¹J_{1'} = 5,3, ¹J_{2'} = 5,7, nach D₂O-Aust. dd); 2,77 (d, 3H, H₃CNH-, nach D₂O-Aust. s); 2,70 (d, 3H, H₃CNHCO, ³J = 4,4, nach D₂O-Aust. s). C₉H₁₆N₄O₃ (228,3)

Nitrat (**32** · HNO₃): 10 g (39,3 mmol) Diprophyllin werden in 30 ml 2 N NaOH bei Raumtemp. gelöst. Unter Eiskühlung wird mit konz. HNO₃ bis pH 1 versetzt. Die Lösung wird etwas eingeeignet, mit EtOH versetzt und filtriert. Aus dem Filtrat fällt ein Niederschlag aus. Weiße Kristalle aus MeOH. Schmp. 150 °C. Ausb. 5,3 g (46%). C₉H₁₆N₄O₃ · HNO₃ (291,3)

Perchlorat (**32** · HClO₄): 0,5 g (2,2 mmol) **32** werden in Ethanol gelöst und bis zur anhaltenden Trübung mit HClO₄ gesättigtem Ether versetzt. Der entstandene Niederschlag wird abgetrennt. Weiße Kristalle aus MeOH. Schmp. 148–151 °C. Ausb. 0,7 g (97%). C₉H₁₆N₄O₃ · HClO₄ (328,7)

3.22. 7-(2-Acetoxyethyl)-1,2,4-trimethyl-8-(N-methylcarbamoyl)-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-diperchlorat (33 · 2 ClO₄)

Nach AAV 1b: 0,6 g (3 mmol) Etofyllidin (**31**), 0,6 g (6 mmol) **4**, 1 ml Acetanhydrid, 60 ml (6 mmol) 0,1 N HClO₄/Eisessig; nach 2 Wochen haben sich Kristalle abgeschieden. Farblose Nadeln aus Acetonitril/Ether. Schmp. 213 °C (Zers.). Ausb. 1,17 g (77%). IR (KBr): 3343, 3106, 3026, 1750, 1683, 1601, 1555, 1517 cm⁻¹. MS (230 °C): m/z (%) = 282 (0,2), 252 (1), 240 (3), 168 (2), 154 (2), 116 (10), 100 (42), 86 (42), 83 (83), 73 (100), 67 (92), 60 (92), 51 (40). ¹H-NMR (CD₃CN): δ (ppm) = 9,63 (s, 1H, 6-H); 7,78 (s' br, 1H, H₃CNHCO, aust.); 7,57 (d', 1H, 3-H, ¹J' = 0,7); 4,88–4,74 (m, 2H, CH₂-CH₂-OR); 4,52–4,38 (m, 2H, CH₂-CH₂-OR); 4,18 (s, 3H, 1-CH₃); 3,03 (d, 3H, H₃CNHCO, nach D₂O-Aust. s); 2,97 (s, 3H, 2-CH₃); 2,94 (s, 3H, 4-CH₃); 2,03 (s, 3H, ROCOCH₃). C₁₃H₂₂N₄O₃²⁺ · 2 ClO₄⁻ (505,3)

3.23. 2-[4-(N-Methylacetamido)-5-(N-methylcarbamoyl)-1-imidazolyl]-ethyl acetat (34)

0,5 g (2,5 mmol) **31** werden mit 0,38 g (3,75 mmol) Acetanhydrid, 0,5 ml (3,75 mmol) Triethylamin und 0,025 g 4-Dimethylaminopyridin in 20 ml CH₂Cl₂ 2 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand sc aufgetrennt. Kieselgelsäule (l = 30 cm, Ø = 3 cm; FM 4). Weiße Kristalle aus MeOH/Ether. Schmp. 108 °C. Rf = 0,45 (FM 4). Ausb. 0,3 g (42%). IR (KBr): 3387, 3116, 2964, 1732, 1671, 1651, 1556, 1521 cm⁻¹. MS (100 °C): m/z (%) = 282 (2; M⁺), 240 (10), 222 (1), 180 (5), 168 (5), 166 (5), 154 (6), 150 (5), 140 (3), 138 (3), 124 (6), 123 (8), 111 (3), 109 (3), 97 (11), 87 (100), 283 (3), 81 (4), 72 (3), 68 (5), 67 (4), 58 (9). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 7,76 (s, 1H, 2'-H); 7,62 (d', 1H, H₃CNHCO, ³J = 4,5, aust.); 4,45 (t, 2H, CH₂-CH₂-OR, ³J = 4,7); 4,28 (t, 2H, CH₂-CH₂-OR); 3,03 (s, 3H, H₃CNCOCH₃); 2,76 (d, 3H, H₃CNHCO, nach D₂O-Aust. s); 1,96 (s, 3H, CH₂-CH₂-OCOCH₃); 1,77 (s, 3H, H₃CNCOCH₃). C₁₂H₁₈N₄O₄ (282,3)

3.24. 3-[4-(N-Methylacetamido)-5-(N-methylcarbamoyl)-1-imidazolyl]-2-acetoxypropyl acetat (35)

0,57 g (2,5 mmol) Diprophyllidin (**32**) werden mit 0,76 g (7,5 mmol) Acetanhydrid, 1 ml (7,5 mmol) Triethylamin und 0,025 g 4-Dimethylaminopyridin in 20 ml CH₂Cl₂ 3 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und nach dem Ansäuern mit HCl mit CHCl₃/Isopropanol (3:1) extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Der Rückstand kristallisiert nach dem Überschichten mit Ether aus. Weiße Kristalle aus Ethanol/Ether. Schmp. 100 °C. Ausb. 0,6 g (68%). IR

(KBr): 3347, 3121, 2953, 1743 br, 1676, 1649, 1557, 1532 cm^{-1} . MS (120 °C): m/z (%) = 354 (0,8; M^+), 312 (3), 253 (2), 212 (1), 196 (4), 180 (2), 179 (2), 166 (2), 162 (2), 159 (9), 154 (5), 140 (2), 136 (4), 124 (5), 122 (3), 110 (3), 109 (2), 101 (21), 86 (100), 72 (5), 70 (5), 58 (38), 44 (75). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ (ppm) = 7,74 (s, 1H, 2'-H); 7,59 (q, 1H, H_3CNHCO , $^3J = 4,5$, aust.); 5,4–5,2 (m, 1H, 2- H_M); 4,61 (dd, 1H, 1- H_A , $^2J_{A/B} = 12,0$, $^3J_{A/M} = 3,7$); 4,35 (dd, 1H, 1- H_B , $^3J_{B/M} = 6,0$); 4,19 (dd, 1H, 3- H_A , $^2J_{A/B} = 14,2$, $^3J_{A/M} = 2,9$); 4,06 (dd, 1H, 3- H_B , $^3J_{B/M} = 8,4$); 3,01 (s, 3H, $\text{H}_3\text{CNCOCCH}_3$); 2,76 (d, 3H, H_3CNHCO , nach D_2O -Aust. s); 2,04 (s, 3H, OCOCCH_3); 1,93 (s, 3H, OCOCCH_3); 1,75 (s, 3H, $\text{H}_3\text{CNCOCCH}_3$). $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6$ (354,4)

3.25. 1-Methyl-4-methylamino-imidazol-5-carbonsäure-Natriumsalz (36)

4,8 g (28,5 mmol) **6** werden in 50 ml 30 proz. NaOH 9 h auf 100 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag abgetrennt, vorsichtig mit Eiswasser gewaschen und getrocknet. Schmp. > 300 °C. Rohausbeute: 3,5 g (69%). IR (KBr): 3389, 3112, 2952, 2817, 1636, 1588, 1528, 1512 cm^{-1} . MS (230 °C): m/z (%) = 111 (82), 110 (66), 96 (5), 95 (5), 83 (39), 82 (32), 69 (32), 56 (10), 45 (77), 43 (100).

3.26. 1,2,4,7-Tetramethyl-imidazo[1,5-a]pyrimidinium-diperchlorat (38 · 2 ClO_4)

Nach AAV 1c: 0,2 g (1,13 mmol) **36**, 0,23 g (2,3 mmol) **4**, 3 ml (3 mmol) 1 N HClO_4 /Eisessig. Beim Ansäuern entweicht ein Gas. Gelbe Nadeln aus CH_3CN /Ether. Schmp. 237 °C (Zers.). Ausb. 0,2 g (47%). IR (KBr): 3416, 3126, 3081, 3011, 2926, 1663, 1574, 1522 cm^{-1} . MS (Substanz nicht ver-

dampfbar, Zersetzung im Tiegel): m/z (%) = 67 (6), 50 (55), 44 (100). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN): δ (ppm) = 9,52 (s, 1H, 6-H); 8,32 (d', 1H, 8-H, $J' = 1,6$); 7,49 (s, 1H, 3-H); 4,27 (s, 3H, 7- CH_3); 4,17 (s, 3H, 1- CH_3); 2,93 (s, 3H, 2- CH_3^*); 2,90 (s, 3H, 4- CH_3^*). UV (CH_3CN): $\lambda_{\text{max}} = 235$ (4,53), 242 sh (4,50), 329 (3,48). $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5^+ \cdot 2 \text{ClO}_4^-$ (376,2)

Herrn Dr. P. Schmitt, Bayer AG Wuppertal, danken wir für die Aufnahme von korrelierten NMR-Spektren und dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung dieser Arbeit.

Literatur

- 1 Deutsches Arzneibuch, 10. Ausgabe, 1991
- 2 Wachsmuth, H.; van Koeckhoven, L.: J. Pharm. Belg. **14**, 79 (1939)
- 3 Rehse, K.; Siemann, U.: Arch. Pharm. (Weinheim) **313**, 180 (1980)
- 4 Wirtz, M.: Diss. Univ. Düsseldorf 1994
- 5 Walentowski, R.; Wanzlick, H. W.: Chem. Ber. **102**, 3000 (1969)
- 6 Hoskinson, R. H.: Austr. J. Chem. **21**, 1913 (1968)
- 7 Matusch, R.: Habilitationsschrift Univ. Marburg 1977
- 8 Binnewies, K. H.: Diss. Univ. Marburg S. 136–137 (1985)
- 9 Biltz, H.; Rakett, H.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **61**, 1409 (1928)
- 10 Pohloudek-Fabini, R.; Döge, G.; Kottke, D.: Pharmazie **39**, 24 (1984)

Eingegangen am 6. Januar 1998

Angenommen am 23. Januar 1998

Prof. Dr. H. Möhrle

Institut für Pharmazeutische Chemie

Universitätsstr. 1

D-40225 Düsseldorf

Institut für Pharmazie¹ und Lebensmittelchemie² der Julius-Maximilians-Universität, Würzburg, Germany

Structure elucidation of “related substances” of acebutolol by LC-MS/MS

C. ENDRES¹, M. HERDERICH² and S. EBEL¹

A liquid chromatographic method for the separation of “related substances” of acebutolol hydrochloride is described. Tandem mass spectrometry in combination with liquid chromatographic separation proved to be a powerful method for the elucidation of chemical structures of the impurities.

1. Introduction

In Pharmacopoeias, one of the more important criteria to assess the purity, and thus the quality of a chemical substance is the test for so-called “related substances”. “Related substances” are intermediates and by-products from a synthetically produced organic substance, coextracted substances from a natural product and degradation products of the substance [1]. Useful limitation of the levels of individual impurities and a sum of impurities requires knowledge of their pharmacological and perhaps toxic effects. The identification of all recurring impurities at or above the 0.1 percent level – toxic impurities even below this level – is according to the ICH guideline “Impurities in New Drug Substances” [2] an objective of the “Technical Guide for the Elaboration of Monographs, 2nd Edition” [1]. For such structural characterisation, mass spectrometry, a method which is already included in the USP 23 and is likely to be attended to the European Pharmacopoeia, particularly in combination with gas- or liquid chromatography is a powerful method for structural characterisation.

Acebutolol (AC), (*RS*)-3'-Acetyl-4'-[2-hydroxy-3-(isopropylamino)propoxy]butanilide (**1**), is a cardio-selective β -adrenergic blocking drug with intrinsic sympathomimetic activity and membrane-stabilizing properties [3–5]. The daily oral doses are ranging from 200 mg up to 1200 mg

[6, 7]. Thus, even a small percentage of impurities are adsorbed in considerable amounts.

In the monograph AC of the European Pharmacopoeia [8] substances **2–6** are described as possible impurities.

The intention of this paper is to describe the structural assignment of possible impurities and characterisation of unknown “related substances” of examined batches of the drug AC by triple-quadrupole mass spectrometry after separation by reversed phase liquid chromatography.

2. Investigations, results and discussion

2.1. Chromatographic performance

The first objective was to develop a fast, cheap and reproducible chromatographic method that is proved to be suited for the separation of all included impurities from AC and to facilitate coupling with a mass spectrometer. Like most of the other β -adrenergic blocking drugs AC is administered as a salt of an organic base. Therefore a chroma-

