

37. Hellmut Bredereck, Heinz-Georg von Schuh und Anne-liese Martini: Neue Synthesen von Xanthin, Coffein und Theobromin.

[Aus dem Institut für Organische Chemie und Organisch-chemische Technologie der Technischen Hochschule Stuttgart.]

(Eingegangen am 19. Dezember 1949.)

Durch Behandeln von Harnsäure mit Formamid bzw. Acetamid entstehen Xanthin bzw. 8-Methyl-xanthin. 4.5-Diamino-uracil und seine 3- oder 1.3-Derivate geben mit Formamid ebenfalls Xanthin bzw. 3-Methyl-xanthin oder Theophyllin. Durch Methylierung von Xanthin mit Dimethylsulfat werden je nach den Bedingungen Coffein oder Theobromin erhalten.

Mit Hilfe von Fermentpräparaten¹⁾, ebenso durch Spaltung mittels Pyridins²⁾ war es uns gelungen, aus Hefenucleinsäure in sehr guter Ausbeute die entsprechenden Nucleoside Guanosin, Adenosin, Cytidin und Uridin zu erhalten. In der Hoffnung, durch Methylierung u.U. zu therapeutisch wertvollen Produkten zu gelangen, führten wir an den genannten Nucleosiden Methylierungen unter verschiedenen Bedingungen mittels Diazomethans³⁾ und Dimethylsulfats⁴⁾ durch. Bei den Dimethylsulfat-Methylierungen fanden wir dann, daß je nach dem pH des Methylierungsansatzes verschiedene Methylverbindungen erhalten werden⁴⁾. Bei Anwendung dieses Prinzips auf Xanthin gelang es uns, daraus in sehr guter Ausbeute Coffein zu erhalten. Damit war der Weg Xanthin → Coffein geebnet und als neue Aufgabe trat die Herstellung von Xanthin an uns heran.

Bei der Herstellung des Adenosins, das ebenso wie seine Phosphorsäure-ester (Muskeladenylsäure, Adenosintriphosphorsäure) therapeutische Bedeutung besitzt, fällt gleichzeitig das Guanosin mit an. Die Hydrolyse des Guanosins führte zu Ribose und Guanin⁵⁾, das selbst zu Xanthin desaminiert werden kann. Damit war auf dem Wege Hefenucleinsäure → Guanosin → Guanin → Xanthin → Coffein eine neue Coffeinsynthese geschaffen. Später konnte Guanosin ohne Isolierung des Guanins unmittelbar in Xanthin übergeführt werden.

Der Wunsch, an Stelle des wertvollen Guanosins ein billigeres und reichlich vorhandenes Ausgangsmaterial zu finden, führte uns dazu, Versuche zur Überführung von Harnsäure in Xanthin durchzuführen. Es gelang uns, aus Harnsäure mittels Formamids in fast quantitativer Ausbeute Xanthin zu erhalten und damit auf dem Wege Harnsäure → Xanthin → Coffein die einfachste bisher bekannte Coffeinsynthese zu schaffen. Die Deutung des Reaktionsmechanismus gab Veranlassung, das im Verlauf der Traubeschen Synthese entstehende 4.5-Diamino-uracil sowie seine Methylverbindungen mit Formamid in Xanthin bzw. Methylxanthine überzuführen, eine Reaktion, die

¹⁾ H. Bredereck, B. 71, 408 [1938].

²⁾ H. Bredereck u. A. Martini, B. 74, 694 [1941].

³⁾ H. Bredereck u. A. Martini, B. 80, 401 [1947].

⁴⁾ H. Bredereck, H. Haas u. A. Martini, B. 81, 307 [1948].

⁵⁾ P. A. Levene, Journ. biol. Chem. 108, 420 [1935]; H. Bredereck, M. Köthnig u. E. Berger, B. 73, 956 [1940].

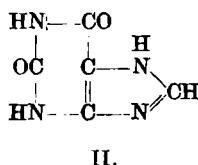
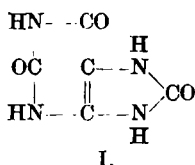
im weiteren Verlauf von uns noch auf andere Purinsynthesen angewendet wurde und somit eine Vereinfachung der bisher bekannten synthetischen Verfahren darstellt.

Die nunmehr leichte Zugänglichkeit des Xanthins führte uns in diesem Stadium der Arbeit dazu, eine Methylierung von Xanthin bzw. dem synthetisch zugänglichen 3-Methyl-xanthin zu Theobromin auszuarbeiten.

Nachdem sich zur Zeit der Durchführung dieser Untersuchungen die Beschaffung großer Mengen von Harnsäure bzw. harnsäurehaltigen Exkrementen als undurchführbar erwiesen hatte, faßten wir als neues Ausgangsmaterial die aus Sulfitablaugen gewonnenen Hefen bzw. die darin vorkommende Hefenucleinsäure ins Auge. Es gelang uns, Hefenucleinsäure in einem Arbeitsgang unmittelbar auf Xanthin zu verarbeiten.

Es sind somit die folgenden neuen Wege zur Darstellung von Xanthin (bzw. Coffein oder Theobromin) entwickelt worden, die in der Reihenfolge der anschließenden Besprechung nochmals aufgeführt seien:

- 1.) Harnsäure (I) \rightarrow Xanthin (II).
- 2.) 4.5-Diamino-uracil \rightarrow Xanthin.
- 3.) a) Hefenucleinsäure \rightarrow Guanosin \rightarrow (Guanin) \rightarrow Xanthin.
b) Hefenucleinsäure \rightarrow Xanthin.



1.) Xanthin aus Harnsäure⁶⁾.

(Bearbeitet von H.-G. v. Schuh.)

Die glatte Umwandlung von Harnsäure (I) in Xanthin (II) ist seit langem das Arbeitsziel zahlreicher Chemiker gewesen. A. Strecker⁷⁾ glaubte aus Harnsäure mittels Natriumamalgams Xanthin erhalten zu haben. Die Nachprüfung dieses Befundes durch E. Fischer⁸⁾ zeigte aber, daß diese Angaben nicht zutrafen. Fischer⁹⁾ konnte dann durch die folgende Reaktionsfolge zum Xanthin gelangen: Harnsäure \rightarrow 2.6-Dichlor-8-oxy-purin \rightarrow 2.6.8-Trichlor-purin \rightarrow 2.6-Diäthoxy-8-chlor-purin \rightarrow Xanthin. E. E. Sundwick¹⁰⁾ erhielt beim Erhitzen von Harnsäure mit Chloroform und Alkali eine geringe Menge Xanthin und Hypoxanthin. Später konnte er durch Verwendung von Calciumformiat bzw. Oxalsäure in Glycerin die Menge des gebildeten Xanthins auf 30% der angewandten Harnsäure steigern¹¹⁾. Letzten Endes diente bei allen diesen Sundwickschen Versuchen Ameisensäure als Reduktionsmittel. Aufbauend auf diesen Untersuchungen veröffentlichte H. Biltz¹²⁾

⁶⁾ Dtsch. Reichs-Pat.-Anm. B. 203113 IV c/12 p v. 29. 6. 43; Vortragsreferat: Chemie 56, 328 [1943]. ⁷⁾ A. 131, 119 [1864]. ⁸⁾ B. 17, 328 [1884]. ⁹⁾ B. 30, 2209 [1897].

¹⁰⁾ C. 1897 II, 776; 1898 II, 1212.

¹¹⁾ C. 1911 I, 1411; 1912 I, 1550.

¹²⁾ Journ. prakt. Chem. [2] 118, 166 [1927].

1927 das Ergebnis einer großen Zahl von Versuchen zur Darstellung des Xanthins. Er behandelte Harnsäure (1 Tl.) mit einem Gemisch von Glycerin (25 Tln.) und Ameisensäure (2,5 Tln.) bei 230–250° und erhielt etwa 30% eines mit Harnsäure verunreinigten Xanthins, dessen Reindarstellung schwierig war.

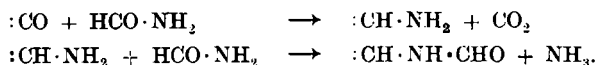
Unsere Arbeitshypothese war, einen Stoff zu finden, der sowohl „Reduktionen“ - als auch Lösungsmittel für die Harnsäure darstellte. Dabei fiel unsere Wahl sogleich auf das Formamid. Erhitzt man Harnsäure mit Formamid, so geht die Harnsäure allmählich in Lösung; in gleichem Maße beginnt aber die Abscheidung des Xanthins. Die Ausbeute an Xanthin ist praktisch quantitativ. Für die Methylierung zum Coffein kann das anfallende Roh-Xanthin, das als dunkelbraunes Pulver vorliegt, verwendet werden. Für Laboratoriumsversuche ist es zweckmäßiger, das Xanthin vor der Methylierung durch Umfällen zu reinigen. Zahlreiche Versuche, durch Zusatz anderer Lösungsmittel oder auch fester Verbindungen zum Formamid die Löslichkeit der Harnsäure noch zu erhöhen, zeigten keine besonderen Ergebnisse.

An Stelle reiner Harnsäure lassen sich auch Schlangensexkremeate verwenden. Dabei erhält man etwa 50–60% Rein-Xanthin, bezogen auf die Menge Exkremeate, d. h. wiederum eine praktisch quantitative Ausbeute an Xanthin, bezogen auf den Harnsäure-Gehalt der Exkremeate.

So wie Harnsäure sich mit Formamid in Xanthin überführen ließ, so war die analoge Reaktion auch bei methylierten Harnsäuren, sofern die CH₃-Gruppe nicht in Stellung 7 saß, zu erwarten. So konnten wir auch aus 1.3-Dimethyl-harnsäure Theophyllin erhalten; allerdings war die Ausbeute geringer (60%) und die Reaktionsdauer eine längere. Die 3-Methyl-harnsäure ließ sich nur schwer „reduzieren“. Methylgruppen am Pyrimidinring hemmen mithin die Reaktion, obwohl sie sich doch von diesem entfernt am Imidazolring abspielt. Erwartungsgemäß ließen sich 1.3.7-Tri- und 1.3.7.9-Tetramethyl-harnsäure nicht „reduzieren“.

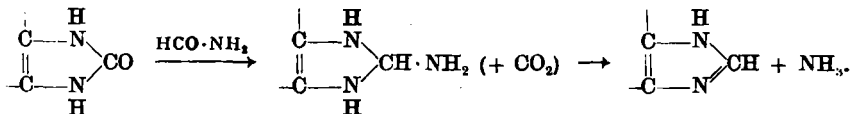
In weiteren Versuchen konnte dann gezeigt werden, daß sich die Reaktion nicht auf Formamid beschränkt, sondern eine allgemeine Reaktion von Säureamiden darstellt. So erhielten wir beim Umsatz von Harnsäure mit Acetamid in guter Ausbeute 8-Methyl-xanthin.

Die Deutung der Formamid-Reaktion bietet eine Reihe von Möglichkeiten, die im folgenden erörtert werden sollen. Carbonylverbindungen sind schon verschiedentlich mit Formamid umgesetzt worden¹³⁾. Dabei bilden sich Amine bzw. Formylamine:

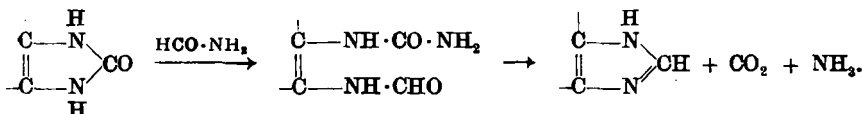


¹³⁾ R. Leukart u. Mitarbb., B. 18, 2341 [1885], 19, 2128 [1886], 20, 104 [1887], 22, 1409 [1889]; O. Wallach u. Mitarbb., A. 269, 347 [1892], 276, 306 [1893], 300, 283 [1898], 343, 54 [1905]; E. Ott, A. 488, 193 [1931]; R. Wegler u. Mitarbb. B. 68, 1057 [1935], 69, 2073 [1936]; A. W. Ingersoll u. Mitarbb., Journ. Amer. chem. Soc. 58, 1808 [1936]; B. Schiedt, Journ. prakt. Chem. [2] 157, 203 [1941].

Im Falle der Harnsäure könnte man sich rein formal vorstellen, daß zunächst eine analoge Reaktion in 8-Stellung eintritt, daß das gebildete 8-Aminoxanthin sofort Ammoniak verliert und in Xanthin übergeht:



Der Unterschied zwischen beiden Reaktionen wird aber offensichtlich, wenn man die Frage stellt, welches Kohlenstoffatom als CO_2 entweicht, dasjenige aus dem Formamid oder das aus der CO -Gruppe (in 8-Stellung). Bei Umsetzung eines einfachen Ketons $\text{R} \cdot \text{CO} \cdot \text{R}$ mit Formamid kann das CO_2 nur aus dem C des Formamids stammen, da eine Sprengung der $\text{C}-\text{C}$ -Kette des Ketons nicht in Frage kommt. Dementsprechend fanden wir auch keinerlei Umsetzung zwischen Benzophenon und Acetamid, die andernfalls Methyl-diphenyl-methylamin hätte ergeben müssen, zumal auch keine Sprengung der $\text{C}-\text{C}$ -Bindung im Acetamid in Frage kommt. Andererseits muß bei dem Umsatz der Harnsäure das C des CO_2 aus dem C-Atom 8 der Harnsäure stammen, da man an Stelle von Formamid auch Acetamid verwenden kann, wobei 8-Methylxanthin entsteht. Die gleiche Verbindung wurde bereits früher bei der Umsetzung von Harnsäure mit Essigsäureanhydrid erhalten¹⁴⁾. Diese Umsetzung wurde von H. Biltz¹⁵⁾ näher untersucht und dafür ein Reaktionsschema angegeben. Wir glauben, daß die Umsetzung mit Säureamiden ähnlich der mit Essigsäureanhydrid verläuft, möchten uns jedoch zunächst auf die nachfolgende Formulierung ohne Aufführen hypothetischer Zwischenverbindungen beschränken.



Versuche zur Aufklärung des Reaktionsverlaufes sind im Gange; wir hoffen, demnächst darüber berichten zu können.

2.) Xanthin aus 4.5-Diamino-uracil¹⁶⁾.

(Bearbeitet von H.-G. v. Schuh.)

Im Verlauf der Traubeschen Purinsynthesen werden als Zwischenprodukte die entsprechenden 4.5-Diamino-pyrimidine gewonnen. Durch Umsetzung mit Ameisensäure wird daraus die Formylamino- und daraus durch Wasserabspaltung unter Ringschluß die Purinverbindung dargestellt. Während in einigen Fällen Formylierung und Ringschluß in einer Operation durchgeführt werden können, wird z. B. gerade im Fall der Xanthinsynthese die Formylaminoverbindung zunächst isoliert. Die Deutung des Reaktionsverlaufes der Xanthindar-

¹⁴⁾ C. F. Boehringer u. Söhne, Dtsch. Reichs-Pat. 121224 (C. 1901 II, 71).

¹⁵⁾ H. Biltz u. W. Schmidt, A. 481, 70 [1923].

¹⁶⁾ Dtsch. Reichs-Pat.-Anm. B. 204018 IVc/12p v. 1. 10. 43.

stellung aus Harnsäure mittels Formamids führte dazu, die Umsetzung von 4.5-Diamino-pyrimidinen mit Formamid zu untersuchen. Erhitzt man 4.5-Diamino-uracil bzw. sein Sulfat in Formamid, so scheidet sich nach wenigen Minuten Xanthin in fast theoretischer Ausbeute aus. Analog läßt sich aus 4.5-Diamino-1.3-dimethyl-uracil glatt Theophyllin und aus 4.5-Diamino-3-methyl-uracil 3-Methyl-xanthin gewinnen. An Stelle von Formamid verwendeten wir auch Acetamid, Propionamid und Benzamid und erhielten entsprechend 8-Methyl-, 8-Äthyl- und 8-Phenyl-xanthin, worüber wir im Zusammenhang mit anderen Versuchen berichten werden.

3.) Xanthin aus Hefenucleinsäure.

a) Über Guanosin und Guanin.

(Bearbeitet von A. Martini.)

Grundsätzlich handelt es sich bei diesem Verfahren um bereits bekannte Reaktionen, die lediglich der Vollständigkeit halber in diesem Zusammenhang nochmals aufgeführt seien. Bereits bei früherer Gelegenheit haben wir über die Darstellung von Guanosin aus Hefenucleinsäure berichtet^{1,2}). Die weitere Spaltung des Guanosins in Guanin und Ribose ist gegenüber unseren früheren Angaben^{1,2,5}) etwas abgeändert und im Versuchsteil nochmals beschrieben. Die Desaminierung des Guanins zu Xanthin wurde von E. Fischer¹⁷) mit Nitrit und Schwefelsäure durchgeführt. Wir haben bei Verwendung von Guaninsulfat, das bei der Guanosin-Spaltung als solches erhalten wird, Salzsäure verwendet. Die exotherm verlaufende Reaktion erfordert bei größeren Ansätzen eine Kühlung.

Eine wesentliche Vereinfachung hat sich nun im Anschluß an das im folgenden Abschnitt geschilderte Verfahren ergeben. Versetzt man das schwefelsaure Hydrolysat des Guanosins – es genügt zur Hydrolyse kurzes Kochen der schwefelsauren Lösung – mit Nitrit, so erhält man in praktisch quantitativer Ausbeute Xanthin, aus dessen Filtrat sich dann die *d*-Ribose gewinnen läßt.

b) Direktes Verfahren.

(Bearbeitet von A. Martini u. E. Schieber.)

Die Hydrolyse der Hefenucleinsäure mit 3.8-proz. Schwefelsäure¹⁸) führt neben Ribosephosphorsäure zu Guanin, Adenin, Cytidyl- und Uridylsäure. Der Zusatz von Nitrit zu dem schwefelsauren Hydrolysat ergab nun in sehr guter Ausbeute (über 90%) Xanthin, das unmittelbar aus der Lösung ausfiel. An Stelle der Hefenucleinsäure, wie sie als Handelsprodukt vorliegt, kann man auch Produkte verwenden, die wesentlich ärmer an Nucleinsäure sind. So konnten wir das Xanthin auch aus einem Produkt mit nur 60% Nucleinsäure-Gehalt darstellen.

Von den vorstehend geschilderten Verfahren zur Darstellung von Xanthin zeichnen sich die Verfahren 1 und 3b durch besondere Einfachheit aus. Welchem von beiden man den Vorzug geben soll, ist lediglich eine Frage des je-

¹⁷) A. 215, 309 [1882]. ¹⁸) H. Bredereck u. G. Richter, B. 71, 718 [1938].

weils vorhandenen Ausgangsmaterials. Bei der heute technisch durchgeführten Darstellung von Adenosin fällt gleichzeitig Guanosin an, das auch in der geschilderten einfachen Weise auf Xanthin verarbeitet werden kann.

Methylierung von Xanthin zu Coffein¹⁹⁾.

(Bearbeitet von A. Martini u. W. Nothmann.)

Die Methylierung von Xanthin zu Coffein ist zuerst von E. Fischer²⁰⁾ mit Methyljodid in alkalischer Lösung durchgeführt worden, jedoch mit unbefriedigender Ausbeute. H. Biltz²¹⁾ arbeitete bei einem 1 g-Ansatz in alkalischer Lösung (9 Mol. Natriumhydroxyd) mit einem großen Dimethylsulfat-Überschuß (12 Mol.) und ließ die Lösung mehrere Stunden bis zum Sauerwerden (infolge der fortschreitenden Dimethylsulfathydrolyse) der Lösung stehen. Dabei erhielt er eine Ausbeute von 39% d.Theorie. Darüber hinaus findet man in der Literatur mehrfach den Hinweis auf die schlechte Ausbeute bei der Methylierung von Xanthin.

Nach dem Auffinden der pH-abhängigen Methylierung bei Nucleosiden haben wir auch Xanthin bei verschiedenem pH und verschiedenen Temperaturen mit Dimethylsulfat methyliert. Bei pH 13–14 wurde wenig Theobromin isoliert (10–15%); daneben waren reichliche Mengen Zersetzungsprodukte entstanden. Bei pH 10–11 wurden bei 55° und 35° Gemische von Coffein und Theobromin erhalten, je etwa 10–20%; bei 35° war die Coffein-Menge reichlicher. Bei 0° und verlängerter Reaktionsdauer wurde überwiegend Coffein erhalten. Bei pH 9–10 stieg die Coffein-Ausbeute weiter an, jetzt auch bei höheren Reaktionstemperaturen (55°). Bei pH 8–9 wurde mit etwa 90% das Optimum an Coffein-Ausbeute erreicht. Die günstigste Reaktionstemperatur lag bei 30–35°. Bei pH 7–8 wurde ein Gemisch, das überwiegend aus Coffein, zum kleineren Teil aus Theobromin bestand, erhalten. Bei kleinerem pH wurde neben unverändertem Xanthin etwas Theobromin (bis 28%), jedoch kein Coffein erhalten. Gleichzeitig waren lange Reaktionszeiten sowie ein großer Dimethylsulfat-Überschuß erforderlich. Unterhalb pH 4 trat keine Umsetzung mehr ein.

Die vorstehenden Ergebnisse lassen sich wie folgt deuten: Im alkalischen Milieu erfolgt, mit experimentellem Optimum bei pH 8–9, die Methylierung in 1.3.7 zum Coffein. Daß im stark alkalischen Gebiet neben wenig Theobromin kein Coffein isoliert wird, dürfte damit zusammenhängen, daß bei diesem pH Zersetzung des entstandenen Coffeins eintritt. Darauf deutet auch der starke Methylamin-Geruch hin. Er tritt auch, wenn auch stark abgeschwächt, bei pH 8–9 und der optimalen Reaktionstemperatur auf. Daß im sauren Gebiet nur, wenn auch wenig, Theobromin isoliert wird, erklärt sich dadurch, daß hier nur die beiden bevorzugten, aciden Wasserstoff-Atome in 3 und 7 methyliert werden. Die hohe Coffein-Ausbeute bei pH 8–9 ist also darauf zurückzuführen, daß einmal wie im gesamten alkalischen Bereich Vollmethylierung in 1.3.7 erfolgt und daß weiter in diesem Bereich die Zersetzung des gebildeten Coffeins weitgehendst zurückgedrängt wird.

¹⁹⁾ Dtsch. Reichs-Pat.-Anm. B. 201677 IVc/12 o. v. 1. 3. 43. Vortragsreferat: Chemie 56, 328 [1943].

²⁰⁾ B. 31, 1987 [1898].

²¹⁾ H. Biltz u. A. Beck, Journ. prakt. Chem. [2] 118, 206 [1928].

Die vorstehenden Ergebnisse werden gestützt durch die gleichartigen Ergebnisse bei der Methylierung des Uracils. Auch hier erreichten wir im alkalischen Gebiet Vollmethylierung zum 1.3-Dimethyl-uracil, hingegen im sauren Gebiet (pH 6) partielle Methylierung zum 3-Methyl-uracil. Die Beschreibung dieser Versuche erfolgt in anderem Zusammenhang.

Methylierung von Xanthin bzw. 3-Methyl-xanthin zu Theobromin.

(Bearbeitet von H.-G. v. Schuh.)

Eine Methylierung von Xanthin bzw. seinem Bleisalz mit Methyljodid zum Theobromin wurde zuerst von E. Fischer²²⁾ durchgeführt. Wie wir selbst feststellen konnten, ist die Ausbeute nicht befriedigend. Ebenfalls von Fischer²³⁾ stammt die Methylierung des nach der Traubeschen Synthese gut zugänglichen 3-Methyl-xanthins mit 1 Mol. Methyljodid in Gegenwart von 1 Mol. Alkali zum Theobromin. Dieses Verfahren liefert jedoch nur beim 8-Chlor-3-methyl-xanthin befriedigende Ausbeuten.

Die leichte Zugänglichkeit des Xanthins ließ uns seine direkte Methylierung zum Theobromin mit Dimethylsulfat erneut versuchen. Die gleiche Acidität der H-Atome in 3 und 7 gegenüber dem wesentlich schwächer aciden Wasserstoff in 1 ließ diesen Versuch als durchaus hoffnungsvoll erscheinen. Die Methylierung von Xanthin bei pH 8–9 mit nur 2 Mol. Dimethylsulfat führte zu einem Gemisch von Coffein und unverändertem Xanthin. Hingegen konnte bei pH 6 bis hinunter zu pH 4 Theobromin erhalten werden; die schlechte Ausbeute (maximal 28%) – im wesentlichen wird Xanthin infolge der gleichzeitigen Eigenhydrolyse des Dimethylsulfats nicht methyliert – machen dieses Verfahren präparativ unbrauchbar.

Bei Versuchen, anlässlich der Coffein-Darstellung das pH durch Zugabe von Puffersubstanzen, z.B. Natriumacetat, zu halten, stellten wir fest, daß bei pH 8–9 neben Coffein stets auch eine kleine Menge Theobromin entsteht. Das deutet darauf hin, daß das Natriumacetat das Wasserstoffatom in 1 bis zu einem gewissen Grade vor der Methylierung schützt. Daß diese Deutung richtig ist, zeigte folgender Versuch: Während Theobromin bei pH 8–9 sich mit 1 Mol. Dimethylsulfat glatt und vollständig zu Coffein methylieren läßt, wird unter sonst gleichen Bedingungen bei Zugabe einer größeren Menge Natriumacetat fast alles Theobromin zurückgewonnen. An Stelle von Natriumacetat zeigten auch Natriumformiat, Natriumborat, Natriumcyanid, Natriumphosphat u.a. die gleiche abschirmende Wirkung. Erst durch einen Überschuß von Dimethylsulfat wird dieser Schutz durchbrochen. Wie soll man diese abschirmende Wirkung erklären? Durch Zusatz von Natriumacetat entsteht Essigsäuremethylester, zu dessen Bildung Dimethylsulfat verbraucht wird; die naheliegende Schlußfolgerung, Xanthin in Gegenwart von Natriumacetat zu methylieren, führte aber nur zu einer unbefriedigenden Theobromin-Ausbeute.

Unabhängig von dieser Beobachtung erzielten wir eine 30-proz. Theobromin-Ausbeute, als wir Xanthin in 2 Mol. Alkalilauge lösten und 2 Mol. Dimethyl-

²²⁾ A. 215, 311 [1882].

²³⁾ B. 31, 1987 [1898].

sulfat zugeben. Nun besteht in der Lösung von Xanthin in 2 Mol. Alkali wohl ein Gleichgewicht derart, daß in der Hauptsache das Monoalkalisalz des Xanthins neben Alkalihydroxyd und wenig Dialkalisalz vorliegt. Nur dieses wird glatt in Theobromin übergeführt. Die Hydrolyse des Dialkalexanthins müßte sich durch Zugabe eines entsprechenden Salzes, z.B. Natriumacetat, zurückdrängen lassen. Ebenso müßte sich eine Verminderung der Hydrolyse durch Zugabe eines Lösungsmittels mit geringerer Dissoziationskonstanten als Wasser, z.B. Methanol, erreichen lassen. Da sich die Herstellung eines Dialkalisalzes in einem nichtwäßrigen Lösungsmittel nicht durchführen läßt, mußten wir uns mit einer 50-proz. wäßrig-alkoholischen Lösung begnügen. Durch Zugabe von Natriumacetat allein erreichten wir eine Ausbeute von über 60%. Die Wirkung des Natriumacetats dürfte nach den vorstehenden Versuchen eine kombinierte sein, einmal eine Zurückdrängung der Hydrolyse, zum andern Verhinderung der Weitermethylierung durch Esterbildung. In 50-proz. alkoholisch-wäßriger Lösung erzielten wir bei gleichzeitiger Zugabe von Natriumacetat eine fast 70-proz. Theobromin-Ausbeute. Die gleiche Ausbeute erreichten wir mit 2 Mol. Kaliumhydroxyd in wäßrig-alkoholischer Lösung ohne Salzzusatz. Unter den gleichen Bedingungen ließ sich 3-Methyl-xanthin mit über 90% Ausbeute zum Theobromin methylieren.

Die vorstehenden Ausbeuten wurden bei kleinen Ansätzen erzielt. Beim Übergang zu größeren Ansätzen sank die Ausbeute; hier bedarf es noch weiterer Versuche.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung von Xanthin.

1. Aus Harnsäure: 3 l Formamid werden in einem 6-l-Duran-Rundkolben auf offener Flamme zum starken Sieden erhitzt. In das siedende Formamid gibt man anteilweise in kurzen Zeitabständen 250 g Harnsäure, die in 800 ccm Formamid aufgeschlämmt und im Mörser verrieben waren. Die Geschwindigkeit des Zugebens muß so geregelt werden, daß das Formamid nicht aufhört zu siedern. Nach Zugabe der Harnsäure kocht man die Lösung noch etwa $3\frac{1}{2}$ Stdn. Die Dauer des Erhitzens hängt ab von der Größe des Ansatzes, von der Korngröße der Harnsäure sowie von der Qualität des Formamids. Entscheidend ist der negative Ausfall der unten beschriebenen Harnsäureprobe im Roh-Xanthin. Das entweichende Formamid wird durch einen Kühler kondensiert und aufgefangen. Nach Beendigung des Erhitzens läßt man die dunkelbraune Lösung erkalten, saugt ab und wäscht den Niederschlag mit Wasser aus, bis das Waschwasser farblos ist. Das Roh-Xanthin wird auf dem Wasserbad getrocknet; Ausb. 200–220 g eines dunkelbraunen Pulvers.

Harnsäureprobe: 1 g Roh-Xanthin wird in 25 ccm 8 n H_2SO_4 kurz zum Sieden erhitzt und abgesaugt. Ist der Umsatz vollständig, so bleibt keine nicht umgesetzte Harnsäure auf der Nutsche zurück.

Reinigung des Xanthins: 200 g Roh-Xanthin werden in 3 l kochende n NaOH eingetragen, mit etwa 130 g Glycerinkohle (Merck) kurz aufgeköcht und über Kieselgur abgesaugt. Zur weiteren Entfärbung gibt man bei 65° unter Rühren 100 ccm Wasserstoffperoxyd hinzu, sodann bei 80° unter Rühren 750 ccm 4 n H_2SO_4 . Man läßt erkalten, saugt ab und wäscht mit Wasser aus; Ausb. 160 g reines Xanthin.

Roh-Xanthin aus reiner Harnsäure haben wir häufig direkt zu Coffein methyliert, während wir Xanthin aus Schlangengexkrementen vorher der vorstehenden Reinigung unterwarfen. Aus 250 g Schlangengexkrementen erhielten wir 195–205 g Roh-Xanthin, daraus 120–130 g reines Xanthin.

2. Aus 4.5-Diamino-uracil: 2 g 4.5-Diamino-uracil-sulfat werden mit 20 ccm Formamid zum Sieden erhitzt. Die Substanz löst sich auf und unter starker Ammoniakentwicklung füllt nach etwa 5 Min. aus der gelben Lösung Xanthin aus. Nach insgesamt 20 Min. Erhitzen läßt man erkalten, saugt ab und wäscht mit Wasser aus; Ausb. 1.45 g (= 100%) Xanthin von ockergelber Farbe; Identifizierung als Nitrat und Perchlorat.

3. Aus Guaninsulfat: 4 l Wasser werden zum Sieden erhitzt, 550 ccm konz. Salzsäure zugegeben und unter Rühren 1000 g Guaninsulfat eingetragen. Zu dieser Lösung läßt man unter Rühren innerhalb 40–50 Min. eine Lösung von 500 g Natriumnitrit in 1.4 l Wasser zufließen. Nach etwa 10 Min. hat sich das Guaninsulfat gelöst, nach weiteren 10 Min. beginnt die Abscheidung von Xanthin. Wenn durch die starke Reaktionswärme die Lösung ins Sieden kommt, gibt man etwas Eis hinzu. Nach beendeter Reaktion läßt man in fließendem Wasser erkalten, gießt die überstehende Lösung ab, saugt das Xanthin ab und wäscht es zuerst mit Wasser, dann mit Aceton aus; Ausb. 660 g (= 94% d.Th.).

4. Aus Guanosin: 100 g Guanosin werden in einem Gemisch von 650 ccm Wasser und 80 g konz. Schwefelsäure 15 Min. gekocht. Die heiße Lösung setzt man auf ein Wasserbad, läßt auf 85° abkühlen und beginnt unter kräftigem Rühren mit dem Zutropfen einer Natriumnitrit-Lösung (80 g Natriumnitrit in 100 ccm Wasser). Die Dauer des Zutropfens beträgt 2–3 Stdn.; die Temperatur soll auf 70–80° gehalten werden. Nach beendeter Reaktion läßt man erkalten, saugt das schwach gelb gefärbte Xanthin ab, wäscht mit Wasser bis zum Verschwinden der Sulfat-Reaktion aus und trocknet auf dem Wasserbad; Ausb. 45–46 g (97% d.Th.).

5. Aus Hefenucleinsäure: 30 g Hefenucleinsäure werden in 450 ccm 5-proz. Schwefelsäure auf dem Wasserbad unter öfterem Umschütteln gelöst und 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wird sodann, gegebenenfalls nach Filtrieren, bei 40–50° unter Rühren tropfenweise mit einer gesättigten Natriumnitrit-Lösung versetzt; dabei scheidet sich nach einiger Zeit ein gelblichweißer Niederschlag aus. Insgesamt sind etwa 8 Mol. Nitrit auf 1 Mol. Nucleinsäure erforderlich. Nach beendeter Reaktion läßt man über Nacht erkalten, saugt ab und wäscht mit Wasser, dann mit Alkohol und Äther nach; Ausb. 3.3 g (= 92% d.Th.).

8-Methyl-xanthin aus Harnsäure.

15 g Harnsäure werden unter denselben Bedingungen wie bei der Xanthin-Darstellung mit 300 g Acetamid 2 Stdn. gekocht; dabei entsteht unter Ammoniakentwicklung eine klare rote Lösung. Sodann destilliert man die Hauptmenge (etwa 260 g) Acetamid ab und gibt zu dem Kolbeninhalt nach dem Abkühlen 120 ccm Methanol. Nach Aufkochen wird heiß abgesaugt und zur Entfernung von Acetamid mehrmals mit heißem Methanol ausgewaschen; Ausb. 12 g 8-Methyl-xanthin als braunes Pulver.

Zur Identifizierung wird das Rohprodukt ohne vorherige Reinigung mit Dimethylsulfat bei p_H 8–9 und 45–50° methyliert, sodann die Lösung nach Ansäuern mehrere Stdn. mit Chloroform extrahiert. Das nach dem Verdampfen des Chloroforms verbliebene Produkt gibt in einer Probe durch Sublimation zwischen Uhrgläsern sofort reines 1.3.7.8-Tetramethyl-xanthin mit dem Schmp. 206–208°. Der Misch-Schmp. zeigt keine Erniedrigung.

3-Methyl-xanthin aus 3-Methyl-4.5-diamino-uracil.

In 20 ccm siedendes Formamid trägt man schnell 3.2 g 3-Methyl-4.5-diamino-uracil ein. Die Substanz geht unter Ammoniakentwicklung in Lösung und nach weniger Min. fällt 3-Methyl-xanthin in Nadeln aus. Man erhitzt insgesamt 20 Minuten. Nach dem Erkalten wird mit 80 ccm Wasser verdünnt, nach einigem Stehenlassen abgesaugt und mit Wasser ausgewaschen; Ausb. 3 g. Das noch schwach gelb gefärbte Produkt kann durch Lösen in Ammoniak, Schütteln mit Tierkohle und Fällen mit Säure gereinigt werden.

Darstellung von Theophyllin.

1. Aus 1.3-Dimethyl-harnsäure: 3.2 g synthet. hergestellte 1.3-Dimethyl-harnsäure werden mit 100 ccm Formamid 2 Stdn. gekocht. Die dunkelbraune Lösung

wird mit dem gleichen Vol. Wasser verdünnt und sodann 4 Stdn. mit Chloroform extrahiert. Nach dem Verdampfen des Chloroforms verbleiben 1.7 g Roh-Theophyllin, das nach dem Umkrystallisieren aus wenig Wasser den Schmp. 269° zeigt.

2. Aus 1.3-Dimethyl-4.5-diamino-uracil: 3 g 1.3-Dimethyl-4.5-diamino-uracil werden mit 15 ccm Formamid 40 Min. zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit 100 ccm Wasser versetzt und mit Chloroform extrahiert. Nach 2-stdg. Extraktion erhält man 3.3 g Theophyllin vom Schmp. 264–268°; Ausb. etwa 95%.

Coffein aus Xanthin.

In einem Dreihalskolben werden 500 g Xanthin in 1600 ccm Wasser suspendiert und auf 35° erwärmt. Aus 2 Tropftrichtern läßt man unter Rühren einerseits 1200 ccm Dimethylsulfat, andererseits etwa 900 ccm Natronlauge (60 g NaOH in 100 ccm Wasser) derart eintropfen, daß das p_H der Lösung stets bei 8–9 bleibt (Tüpfeln mit Indikatorpapier). Durch gute Außenkühlung sorgt man dafür, daß die Innentemperatur bei 35° gehalten wird. Das Zutropfen dauert etwa 70 Min.; anschließend rührt man noch 30 Min. unter Einhaltung des p_H , wozu nur noch wenig Natronlauge benötigt wird. Zur Ausfällung der Hauptmenge an Coffein gibt man eine Lösung von 500 g Natriumacetat in 250 ccm Wasser hinzu und stellt über Nacht in den Eisschrank. Das abgeschiedene Coffein wird abgesaugt, mit kaltem Wasser ausgewaschen und das Filtrat im Extraktor 7 Stdn. mit Chloroform extrahiert. Nach dem Verdampfen des Chloroforms erhält man eine zweite Coffein-Fraktion; Gesamtausb. 550 g (= 86% d.Th.). Bei kleineren Ansätzen wurden Ausbeuten von über 90% d.Th. erhalten.

Darstellung von Theobromin.

1. Aus Xanthin: 8 g Xanthin werden in 15 ccm Wasser aufgeschlämmt und durch Erwärmen mit einer Lösung von 6 g Kaliumhydroxyd in 60 ccm Wasser in Lösung gebracht. Sobald die Temperatur der Lösung 60–70° erreicht hat, gibt man unter Rühren 75 ccm Methanol hinzu und läßt innerhalb einiger Min. 10.5 ccm Dimethylsulfat zutropfen. Nach dem Erkalten wird die Lösung ohne Rücksicht auf bereits ausgefallenes Theobromin 4–5 Stdn. mit Chloroform extrahiert. Nach dem Verdampfen des Chloroforms erhält man 5.6 g Theobromin (Schmp. 330°). Durch Umkrystallisieren aus Wasser mit etwas Tierkohle wird es rein erhalten.

Aus der wäßr. Schicht der Chloroformextraktion erhält man durch Absaugen 1 g Xanthin zurück. Die Ausbeute an Roh-Theobromin beträgt somit 68% d.Theorie.

2. Aus 3-Methyl-xanthin²⁴): 1 g 3-Methyl-xanthin wird in 10 ccm Wasser aufgeschlämmt und mit 0.4 g Kaliumhydroxyd in 15 ccm Wasser in Lösung gebracht. Sodann gibt man 25 ccm Methanol hinzu und schüttelt bei 60° mit 0.7 ccm Dimethylsulfat 1–2 Minuten. Nach dem Erkalten erhält man beim Absaugen 0.8 g Theobromin; die Chloroformextraktion des Filtrats liefert weitere 0.2 g; Gesamtausb. 1 g (= 91% d.Th.).

Spaltung von Guanosin zu Guanin und Ribose.

In zwei 5-l-Rundkolben werden je 3.4 l Wasser und 100 ccm konz. Schwefelsäure zum Sieden erhitzt und je 500 g Guanosin eingetragen. Sobald die Lösung nach dem Eintragen wieder zum Sieden kommt, läßt man noch weitere 15 Min. kochen. Sodann kühlt man schnell unter fließendem Wasser ab und stellt über Nacht in den Eisschrank. Das ausgefallene Guaninsulfat wird nunmehr abgesaugt und nacheinander mit je 300 ccm Wasser, 100 ccm Alkohol und 100 ccm Äther (zum schnelleren Trocknen) gewaschen; Ausb. 660 g (= 96% d.Th.). Das Guaninsulfat hat die Zusammensetzung $C_5H_8ON_5$, $\frac{1}{2}H_2SO_4 + H_2O$.

Die Filtrate der beiden Ansätze werden nunmehr vereinigt und mit einer heiß gesättigten Barytlösung (740 g Bariumhydroxyd in 1.5 l Wasser) versetzt, bis das p_H der Lösung 5.5–5.8 beträgt. Nach Absitzen des Bariumsulfats wird die überstehende klare Lösung abgossen, der Rest zentrifugiert. Der Bariumsulfat-Rückstand wird auf der Zentrifuge mit 300 ccm heißem Wasser ausgewaschen. Die vereinten Filtrate werden nun-

²⁴) Mitbearbeitet von Frau Eva Hoepfner.

mehr im Kreislaufverdampfer bei 30–40° zunächst auf etwa 1.5 l, sodann, nach Absaugen eines u. U. entstandenen Niederschlags über Kieselgur, bis zum Sirup eingeeengt. Der Rückstand wird zweimal mit je 400 ccm Alkohol aufgenommen und jeweils wieder zum Sirup eingedampft. Nunmehr werden 1 l absol. Alkohol zugegeben. Man bewahrt 1 Stde. bei Zimmertemperatur, sodann noch 1 Stde. im Eisschrank auf und gießt von ausgefallenem Niederschlag ab. Die Lösung wird nunmehr mit 100 ccm Äther versetzt und nach Zugabe von reichlich Tierkohle filtriert. Das Filtrat wird auf etwa 400 ccm eingeeengt, angeimpft und in den Eisschrank gestellt. Nach einigen Tagen wird die *d*-Ribose abgesaugt, mit kaltem Alkohol gewaschen und im Exsiccator getrocknet.

Die obige Alkohol- und Äther-Fällung (einschl. Tierkohle) wird in 400 ccm Alkohol auf dem Wasserbad gelöst, über Kieselgur abgesaugt und i. Vak. zum Sirup eingeeengt. Nunmehr werden, wie oben beschrieben, durch Zugabe von 250 ccm absol. Alkohol Verunreinigungen gefällt; es wird bei Zimmertemperatur, dann im Eisschrank aufbewahrt und die Lösung abgegossen. Diese Lösung wird zusammen mit dem Filtrat der 1. Ribose-Krystallisation mit 50 ccm Äther versetzt und nach Zugabe von Tierkohle abgesaugt. Das Filtrat wird i. Vak. auf etwa 150 ccm eingeeengt und zum Auskrystallisieren in den Eisschrank gestellt; Gesamtausb. an Ribose 356 g (= 76% d. Th.). Zur weiteren Reinigung wird aus Alkohol umkrystallisiert.