

Das schwach gelbe Destillat war bei Zimmertemperatur bei völligem Ausschluß von Luft und von Feuchtigkeit einige Tage lang haltbar. Feuchtigkeit hydrolysierte sofort unter Bildung von Piperidin, Flußsäure und Schwefeldioxyd. Aber auch bei sorgfältigem Feuchtigkeitsausschluß veränderten sich die in Glasgefäßen aufbewahrten Präparate langsam, da das bei der Hydrolyse entstandene HF, wenn es auch zunächst nur in Spuren vorhanden war, mit dem SiO_2 des Glases wieder neben SiF_4 Wasser liefert, das dann die Zersetzung des Piperidids weiter bewirkt.

$\text{OS}(\text{F})\text{NC}_5\text{H}_{10}$ (151.2) Ber. C 39.7 H 6.67 N 9.3 F 12.6 S 21.2

Gef. C 39.9 H 6.62 N 8.7 F 12.5 S 21.2

Mol.-Gew. 167 (kryoskop. in Nitrobenzol)

Fluorsulfinsäure-diäthylamid

Ganz analog dem Piperidid wurde das Fluorsulfinsäure-diäthylamid hergestellt. Es wurde ein gelbes Öl, Sdp.₂₀ 63–65°, erhalten.

$\text{OS}(\text{F})\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ (139.1) Ber. C 34.5 H 7.2 N 10.1 F 13.7

Gef. C 34.5 H 9.2 N 9.8 F 13.5

Auch diese Substanz hydrolysierte sehr leicht unter Bildung von Diäthylamin, H_2F_2 und SO_2 .

Die Umsetzung zwischen OSF_2 und *n*-Butylamin

Wir nahmen die Umsetzung nach dem Verfahren vor, das bei dem Piperidid beschrieben ist. Nach Abdestillieren des Äthers erfolgte Sieden des Rückstandes, der ein hellgelbes Öl darstellte, unter Zersetzungserscheinungen, d. h. unter Abspaltung von HF. Bei Sdp.₂₀ 35–36° ging ein farbloses Öl über, das noch etwas Fluor enthielt, sich aber bei 760 Torr bei 116° destillieren ließ und dann frei von Fluor war. Diese farblose Flüssigkeit war nicht hygroskopisch, löste sich in Wasser von Zimmertemperatur erst nach minutenlangem Schütteln unter Hydrolyse und war, an der trockenen Luft aufbewahrt, beständig.

$\text{OS}-\text{N}(\text{C}_4\text{H}_9)$ (119.2) Ber. C 40.3 H 7.61 N 11.7 S 26.9

Gef. C 40.8 H 7.51 N 11.7 S 26.6

156. Rudolf Tschesche und Günther Heuschkel: Über Pteridine, XIV. Mitteil.¹⁾: Die Synthese eines Urothion-Analogen mit Methylseitenkette

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg]

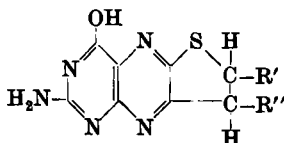
(Eingegangen am 19. Dezember 1955)

Es wird die Synthese des 4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2',3':6,7-pteridins] (XIV) beschrieben, das die Schwefelsäure- wie die Permanganat(Pm)-Reaktion in analoger Weise wie Urothion zeigt.

In der XII. Mitteilung dieser Reihe wurde von uns zusammen mit F. Korte²⁾ für den orangefarbenen Harnfarbstoff Urothion die Konstitution eines 4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-[α,β -dihydroxy-äthyl]-[thiophano-2',3':6,7-pteridins] (I) vorgeschlagen. In dieser Arbeit war bereits die Synthese der Verbindung II beschrieben worden, deren UV-Absorption der des

¹⁾ XIII. Mitteil.: R. Tschesche, H. Barkemeyer u. G. Heuschkel, Chem. Ber. 88, 1258 [1955]. ²⁾ Chem. Ber. 88, 1251 [1955].

Urothions weitgehend ähnelte, jedoch nicht dessen kirschrote Färbung mit 80-proz. Schwefelsäure beim Erwärmen lieferte. Es schien wahrscheinlich, daß diese Farbreaktion sowie auch die sogenannte Pm-Reaktion (moosgrüne Fluoreszenz der Lösung nach Oxydation mit Permanganat in saurer Lösung) erst durch die Methylmercaptogruppe in 4'-Stellung des Thiophanorings ausgelöst wird. Eine Bestätigung dieser Annahme würde eine wertvolle Stütze für die angenommene Konstitution des Urothions bedeuten.



I: $R' = -CH(OH) \cdot CH_2OH$, $R'' = -SCH_3$

II: $R' = -CH_3$, $R'' = -H$

XIV: $R' = -CH_3$, $R'' = -SCH_3$

III: $R' = -CH_2 \cdot CO \cdot CH_3$, $R'' = -H$

IIIa: $R' = -CH_2 \cdot CO \cdot CH_3$, $R'' = -CO \cdot CH_3$

IV: $R' = -CH(OH) \cdot C(OH)(SCH_3) \cdot CH_3$, $R'' = -CO \cdot CH_3$

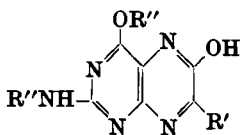
V: $R' = -CHCl \cdot C(OH)(SCH_3) \cdot CH_3$, $R'' = -CO \cdot CH_3$

VI: $R' = -CH(SCH_3) \cdot CO \cdot CH_3$, $R'' = -H$

XI: $R' = -CH(SCH_3) \cdot CH(OH) \cdot CH_3$, $R'' = -H$

XII: $R' = -CH_2 \cdot CH(OH) \cdot CH_3$, $R'' = -H$

XIII: $R' = -CH(OH) \cdot CH(OH) \cdot CH_3$, $R'' = -H$



Da die direkte Einführung der Methylmercaptogruppe in das Thiophano-pteridin II wegen der Reaktionsfähigkeit des Ringschwefels wenig Aussicht auf Erfolg bot, wurde zunächst versucht, in eine Vorstufe von II, das 7-Acetonil-xanthopterin(III), in α -Stellung zum Pyrazinring Brom einzuführen, um dieses später gegen den Methylmercaptorest auszutauschen. Leider erwies sich dieser Weg als nicht gangbar, da es nicht gelang, die Substitution durch Brom im Gegensatz zu früheren Beobachtungen³⁾ zu erreichen. Es entstand stets nur ein Perbromid der Verbindung III mit 4 Bromatomen, das schon beim Behandeln mit wäßriger Kaliumjodid-Lösung das Ausgangsmaterial zurück ergab. Trotz vieler aufgewandter Mühe unter den verschiedensten Bedingungen (Zusatz von Dibenzoylperoxyd, Spuren von konz. Schwefelsäure, Acetanhydrid u. a.) konnte die Ursache des Mißerfolges gegen früher nicht festgestellt werden.

Nachdem H. Brintzinger und M. Langheck⁴⁾ gezeigt haben, daß Ketone mit Methylschwefelchlorid unter Bildung von α -Methylmercapto-ketonen unter Chlorwasserstoff-Abspaltung reagieren, wurden durch Umsetzung von IIIa mit diesem Reagens zwei Verbindungen erhalten. Die aus dem Reaktionsgemisch in Tetrahydrofuran auskristallisierende Substanz erwies sich auf Grund der Analyse und des UV-Spektrums (λ_{\max} 335 μ , $\log \epsilon = 4.15$) nicht als Pteridin-Derivat; dabei dürfte es sich vielleicht um eine durch Abbau des Pteridins entstandene Hydroxy-amino-pyrazin-carbonsäure handeln. Etwa das gleiche Maximum zeigte auch die von A. Albert⁵⁾ hergestellte 2-Amino-pyrazin-carbonsäure-(3) (λ_{\max} 340 μ). Dagegen ließ sich aus der Mutterlauge als Hauptprodukt ein Pteridin isolieren, das sich als 4,6-Dihydroxy-2-amino-7-[α,β -dihydroxy- β -methylmercapto-propyl]-pteridin-diacetat (IV) (R_f 0.86) herausstellte. Seine Konstitution ergibt sich aus folgenden Beobachtungen:

Die zunächst anfallende Substanz (V) erwies sich als stark hygroskopisch und begann alsbald Chlorwasserstoff abzuspalten, so daß sie zur Stabilisierung zunächst mit wäßrigem Natriumacetat umgesetzt wurde. Dabei tauschte das bewegliche Halogen gegen

³⁾ R. Tschesche u. F. Korte, Chem. Ber. 84, 81 [1951].

⁴⁾ Chem. Ber. 86, 557 [1953].

⁵⁾ J. chem. Soc. [London] 1955, 2690.

⁸) Ber. deutsch. chem. Ges. **20**, 2190 [1887]; **22**, 3271 [1889].

Die Kondensation von VIII mit 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-hydrochlorid wurde zunächst in 90-proz. Äthanol versucht. Dabei entstand eine farblose Verbindung, der vielleicht die Konstitution X zukommt. Es mußte sich dabei um ein Pyrimidin-Derivat handeln, da es die für diese Stoffklasse charakteristische Absorption bei 280 m μ ($\log \epsilon = 4.22$) zeigte. Die Farblosigkeit des Kondensationsproduktes spricht gegen das Vorliegen einer Schiffschen Base, doch könnte die Verbindung X durch eine Protonen-Verschiebung aus einer solchen hervorgegangen sein. Es gelang, X unter verschiedenen Bedingungen in ein Gemisch von Pteridinen überzuführen, in dem sich auch die gesuchte Verbindung VI befand bzw. ihre Umwandlungsprodukte.

Schließlich gelang die Umsetzung zur Verbindung VI in Wasser in Gegenwart von $\frac{1}{2}$ Äquiv. Natriumacetat, welches die Säure des angewandten 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfats teilweise bindet. Wurde jedoch 1 Äquiv. Natriumacetat verwendet, so entstand die gleiche Verbindung X, die auch in Äthanol erhalten wurde. Da VI sehr empfindlich ist, wie die Entstehung größerer Mengen Methylmercaptan bei der Reaktion zeigt, kann das Gelingen der Synthese unter den gewählten Versuchsbedingungen nur mit der außerordentlichen Schwerlöslichkeit von VI erklärt werden. Die Ausbeute betrug 35% der Theorie.

Die Verbindung VI war leicht hydrolysierbar; die dabei entstehenden Pteridin-Derivate konnten jedoch nicht identifiziert werden. Bei der Behandlung mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung ging VI unter Mercaptan-Abspaltung in 7-Acetonyl-xanthopterin (III) über. Der R_F -Wert 0.24 von VI war etwas größer als von III, eine Erscheinung, die auch bei anderen analogen Verbindungen beobachtet wurde. Im UV-Spektrum zeigten beide Pteridine eine gewisse Ähnlichkeit, jedoch war die Lage der Maxima verschieden (vergl. Tafel). Noch größer war der Unterschied der Spektren bei den Acetaten. Während das Diacetat von III drei Maxima aufwies, war das dritte Maximum bei dem Diacetat von VI völlig verschwunden (vergl. Tafel). Bemerkenswerterweise gab VI mit 80-proz. Schwefelsäure eine ziegelrote Farbreaktion. Der Farbton war auch bei den nachfolgend beschriebenen synthetischen Pteridinen mit Methylmercaptogruppe stets ziegelrot, während die Reaktion mit Urothion mehr kirschrot ausfällt. Der Unterschied mag mit der Glykolseitenkette des letzteren in Zusammenhang stehen. Bei vorsichtiger Oxydation mit Permanganat im Unterschluß zeigte sich eine prachtvoll moosgrüne Fluoreszenz ähnlich der des Urothions (Pm-Reaktion).

Die Reduktion von VI mit Natriumborhydrid unter den Bedingungen, wie sie früher von R. Tschesche und H. Barkemeyer⁷⁾ für das 7-Acetonyl-xanthopterin angegeben wurden, sollte zu dem 7-[α -Methylmercapto- β -hydroxy-propyl]-xanthopterin (XI) führen. Überraschenderweise entstand jedoch eine farblose Verbindung (R_F 0.24), die nur schwach fluorescierte (dunkelorange) und nur ein einfaches Absorptionsmaximum bei λ_{\max} 280 m μ , $\log \epsilon = 4.09$, aufwies. Sie gab wohl die Farbreaktion mit 80-proz. Schwefelsäure, nicht aber die Pm-Reaktion. Da sich ihre Lösung in verd. Lauge allmählich gelb färbte unter Auftreten eines zweiten Maximums bei 400 m μ , handelte es sich um ein Dihydropteridin, in dem der Pyrazinring hydriert wurde.

In gleicher Weise ließen sich auch Xanthopterin und 7-Acetonyl-xanthopterin (III) hydrieren, so daß vermutet werden darf, daß in den früheren Versuchen⁷⁾ mit Acetonyl-

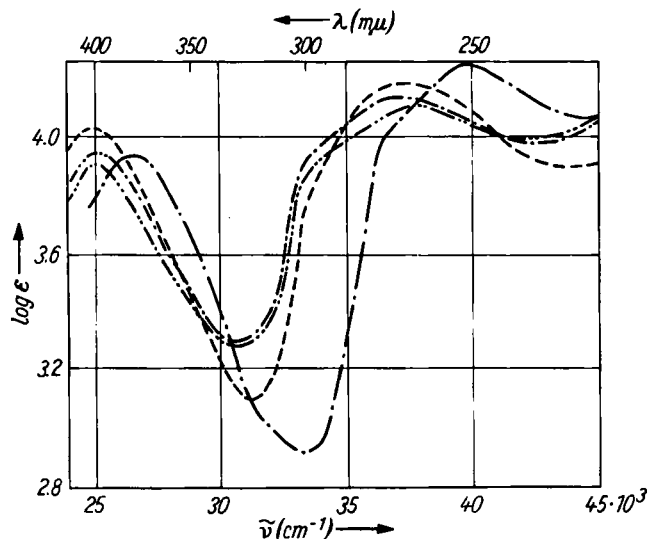
xanthopterin zunächst auch die Dihydroform entstanden war, die bei der Aufarbeitung dehydriert wurde. Diese Feststellung ist im Zusammenhang mit der Angabe von M. A. Schou⁹⁾ wichtig, nach der Xanthopterin zum Teil in der Ketoform vorliegen kann, da von Natriumborhydrid zu erwarten ist, daß es vor allem eine Reduktion von Ketogruppen bewirkt.

Das aus VI erhaltene 7-[α -Methylmercapto- β -hydroxy-propyl]-dihydro-xanthopterin ließ sich durch Luftoxydation dehydrieren. Dabei zeigte sich, daß die Reaktion nicht einheitlich verlief. Es entstanden 2 Stoffe mit den R_F -Werten 0.56 und 0.68 (Fluoreszenz gelb), von denen nur der letztere dem gesuchten 7-[α -Methylmercapto- β -hydroxy-propyl]-xanthopterin (XI) zukommt. Es gelang jedoch, die Dehydrierung in Gegenwart von Platin so abzukürzen, daß sie weitgehend zu Gunsten der gesuchten Verbindung XI verlief.

Die neue Verbindung XI zeigte eine für Pteridin-Derivate ungewöhnlich hohe Löslichkeit in Wasser und in Butanol. Durch Raney-Nickel konnte die Substanz in 7-[β -Hydroxy-propyl]-xanthopterin (XII) übergeführt werden. Bei der Hydrolyse mit Alkalien ging die Verbindung sehr schnell in ein Pteridin-Derivat mit dem R_F -Wert 0.56 über, bei dem es sich wahrscheinlich um das 7-[α,β -Dihydroxy-propyl]-xanthopterin⁷⁾ (XIII) handelte. Diese Verbindung war jedoch auch nicht stabil, und schließlich entstand unter Wasserabspaltung 7-Acetyl-xanthopterin (III). Aus XI konnte durch Umsetzung mit Acetanhydrid ein Diacetat erhalten werden, das als Monohydrat kristallisierte und eine rote Schwefelsäure- und eine gelbe Pm-Reaktion lieferte.

Der Ringschluß mit Diphosphorpentasulfid in Thioacetamid/Thioharnstoff²⁾ lieferte das gesuchte 4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2':3':6.7-pteridin] (XIV). Wegen der großen Empfindlichkeit der Vorstufe (XI) betrug jedoch die Ausbeute nur etwa 10%. Die Substanz konnte nach mehrmaligem Umfällen in Form kleiner Rhomben kristallisiert werden. Dieses durch die Methylmercaptogruppe substituierte Thiophanopteridin erwies sich der SCH_3 -freien Verbindung außerordentlich ähnlich und konnte durch Raney-Nickel in diese übergeführt werden. Wie das SCH_3 -freie Thiophano-pteridin und wie Urothion zeigte sich die Verbindung gegen hydrolysierende Einflüsse im Vergleich zu den ringoffenen Vorstufen relativ stabil. Bei der Pm-Reaktion entstand ein prachtvoll moosgrün fluorescierende Oxydationsprodukt (R_F 0.53) wie bei Urothion, das sich gegen überschüssiges Permanganat einige Zeit beständig erwies. Mit 80-proz. Schwefelsäure entstand die ziegelrote Farbreaktion, die auf die Mercaptogruppe zurückgeht. Das UV-Spektrum ergab eine durch die Methylmercaptogruppe zu erwartende typische Rotverschiebung um 3 $m\mu$ gegenüber dem nicht substituierten Thiophano-Derivat (s. Abbild. 1), die Lage der Maxima war die gleiche wie bei Urothion. Die Verbindung XIV lieferte ein kristallisiertes Diacetat, das bei der Permanganat-Oxydation eine intensiv blaue Fluoreszenz ergab (R_F 0.70). Die Spektren der Acetate von II und XIV waren einander sehr ähnlich, auch hier zeigte sich eine Rotverschiebung um 5 $m\mu$ (vergl. Tafel).

⁹⁾ Arch. Biochem. Biophysics 28, 24 [1950].



Abbild. 1. Spektren von \cdots Urothion, \cdots 4-Hydroxy-2-amino-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7]-pteridin (II), $---$ 4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7]-pteridin (XIV), $---$ 4-Hydroxy-2-amino-5'-methyl-[dihydrofurano-2'.3':6.7]-pteridin] (gemessen in n_{20} NaOH)

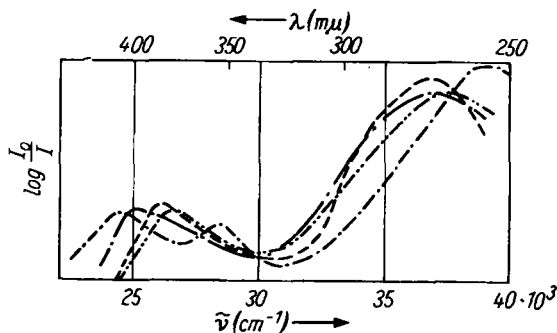
UV-Spektroskopische Daten der dargestellten Verbindungen

	λ_{\max} (m μ)	log ϵ
4-Hydroxy-2-amino-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7]-pteridin (II)	267, 397	4.15, 3.90
Diacetyl-Verbindung	305, 385	4.20, 3.90
7-Acetyl-xanthopterin (III)	240, 310, 430	4.00, 3.65, 4.00
Diacetyl-Verbindung (IIIa)	250, 315, 400	4.20, 4.05, 4.15
4,6-Dihydroxy-2-amino-7-[α,β -dihydroxy- β -methylmercapto-propyl]-pteridin	260, 410	4.15, 3.87
Diacetyl-Verbindung (IV)	290, 390	4.21, 3.72
4,6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto-acetyl]-pteridin (VI)	255, 325, 395	4.25, 3.65, 4.00
Diacetyl-Verbindung	270, 370	4.25, 4.05
4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7]-pteridin (XIV)	270, 400	4.21, 3.95
Diacetyl-Verbindung	310, 385	4.15, 3.88

Für die Reinigung der neu hergestellten Pteridine haben sich chromatographische Verfahren mit Aluminiumoxyd und mit Cellulosepulver sehr bewährt, nähere Angaben finden sich darüber bei der Beschreibung der Versuche.

Um weitere Anhaltspunkte hinsichtlich der Beziehungen unserer Thiophano-pteridine zu Urothion zu gewinnen, wurde auch die Pm-Reaktion der

nicht durch SCH_3 substituierten Verbindung II genauer untersucht. Auch hier entstand ein prächtig moosgrün fluoreszierendes Oxydationsprodukt analog dem Urothion (R_F 0.53). Die quantitative Auswertung der Reaktion ergab, daß 4 Äquiv. Pm verbraucht wurden, so daß an die Bildung eines Sulfons zu denken ist. Die Spektren der Oxydationsprodukte von II und XIV sowie des Urothions nach der Pm-Reaktion wiesen eine bemerkenswerte Ähnlichkeit auf. Bei denen von II und XIV zeigte sich wieder die Rotverschiebung λ_{\max} 272.5 und 385 $m\mu$ gegenüber 270 und 380 $m\mu$ bei dem nicht durch SCH_3 substituierten Thiophano-Derivat. Das zweite Maximum (λ_{\max} 400 $m\mu$) ist beim Oxydationsprodukt des Urothions noch beträchtlich weiter ins Rote verschoben, was auf den Einfluß der bei der Oxydation aus der Glykolseitenkette entstehenden Carboxygruppe zurückgeführt werden kann (Abbild. 2).



Abbild. 2. Spektren der Kaliumpermanganat-Oxydationsprodukte von: — Urothion, — — — 4-Hydroxy-2-amino-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7-pteridin] (II), — — — 4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7-pteridin] (XIV), — — — 4,6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto-acetonyl]-pteridin (VI) (gemessen in n_{20} NaOH nach Elution der Papierchromatogramme. Es können deshalb über die Extinktion keine genauen Angaben gemacht werden, jedoch ist anzunehmen, daß sie von der gleichen Größenordnung ist, wie die der anderen Pteridine ($\log \epsilon \sim 3.0-4.0$))

Die neuen Befunde an dem durch SCH_3 substituierten Thiophano-pteridin stützen in befriedigender Weise die in der XII. Mitteilung über Pteridine²⁾ vorgeschlagene Konstitution des Urothions und zeigen die große Ähnlichkeit im Verhalten in vielen wichtigen Eigenschaften. Es scheint daher berechtigt, das 4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2'.3':6.7-pteridin] (XIV) als Methylanaloges des Urothions zu betrachten.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft auch an dieser Stelle für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

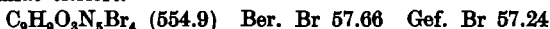
Beschreibung der Versuche

Papierchromatographie: 1 mg der jeweiligen Substanz wurde in einem ccm Lösungsmittel, bei Pteridinen meist n_{10} NaOH, bei Pteridin-acetaten Eisessig oder Chloroform/Methanol, gelöst, ein Tropfen der Lösung auf einem Streifen Papier Schleicher & Schüll 2043b aufgetragen und mit einer 3-proz. Ammoniumchlorid-Lösung entwickelt. Die angegebenen R_F -Werte gelten, soweit nicht anders vermerkt, für dieses Verfahren.

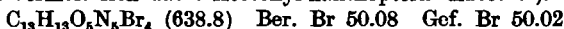
Die Farbangebe bezieht sich auf die Fluoreszenzfarbe auf dem Papier unter der UV-Lampe. Sie unterscheidet sich in vielen Fällen von der Fluoreszenzfarbe in Lösung.

Bromierung des 7-Acetonyl-xanthopterins (III)³: 1 g 7-Acetonyl-xanthopterin (4.3 mMol) wurde in 100 ccm sorgfältig getrocknetem Eisessig aufgeschlämmt und 0.45 g Brom (5.6 mMol), in etwas Eisessig gelöst, unter Rühren langsam zutropft. Nach 3 Stdn. wurde vom nicht umgesetzten Ausgangsmaterial abfiltriert. Nachdem die Lösung bei 12 Torr weitgehend eingeeengt worden war, schieden sich gelbe Nadelbüschel einer Tetrabrom-Anlagerungsverbindung aus. Sie war recht gut löslich in Wasser, Äthanol, Eisessig und Tetrahydrofuran, jedoch gelang es nicht sie umzukristallisieren, dabei begann sie sich alsbald zu zersetzen. R_F -Wert 0.57, blau.

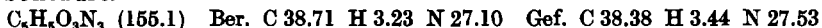
Wurde die Brom-Anlagerungsverbindung mit überschüss. wäBriger Kaliumjodid-Lösung so lange gerührt, bis keine Jodausscheidung mehr auftrat, ging die Substanz zunächst in Lösung, und schließlich fiel 7-Acetonyl-xanthopterin aus. Das ausgeschiedene Jod wurde mit Thiosulfat titriert.



Entsprechend verhielt sich das 7-Acetonyl-xanthopterin-diacetat³).

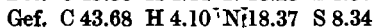
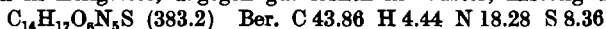


Umsetzung des 7-Acetonyl-xanthopterins mit Methylschwefelchlorid: 800 mg 7-Acetonyl-xanthopterin-diacetat wurden so lange mit kleinen Mengen Tetrahydrofuran geschüttelt, bis sich die Substanz gelöst hatte (350 ccm insgesamt). Zu der Lösung wurden 10 g Methylschwefelchlorid gegeben; nach Stehenlassen über Nacht hatten sich an der Gefäßwand 80 mg gelblicher nadelförmiger Kristallaggregate abgeschieden, von denen die Lösung abgegossen wurde. Sie wurde auf etwa 50 ccm i. Vak. eingeeengt, worauf nochmals 30 mg Kristalle erhalten werden konnten. Die Kristalle wurden zunächst 2mal durch Lösen in n_{10} NaOH und Eingießen der Lösung in verd. Essigsäure umgefällt. Da sie sich auch dann noch nicht einheitlich erwiesen, wurden sie aus Wasser umkristallisiert. Dabei entstanden farblose quadratische Plättchen, denen gelbliche Kristallwarzen beigemischt waren; durch Schlämmen unter Zusatz von etwas Äther ließen sich letztere mit Wasser entfernen. Die Plättchen wurden noch 2mal aus Wasser umkristallisiert und waren dann einheitlich. Sie zeigten bis 330° keinen Schmelzpunkt, R_F -Wert 0.40, blauviolett. Sie lösten sich leicht in verd. Alkalien und sehr schwer in verd. Säuren. Das UV-Spektrum sprach für eine Hydroxy-amino-pyrazin-carbonsäure.



Das eingeeengte Filtrat wurde mit der vierfachen Menge Petroläther versetzt, dabei flockte das in Lösung gebliebene Pteridin-Derivat aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert, und da er an der Luft begierig Wasser unter Dunkelfärbung anzog, wurde er sofort in Methanol aufgenommen und die Lösung in eine wäBr. Natriumacetat-Lösung eingegossen. Das Ungelöste wurde abfiltriert und die Lösung mit Chloroform fraktioniert ausgeschüttelt. Die ersten Extrakte erwiesen sich bei der papierchromatographischen Untersuchung als stark verunreinigt und wurden verworfen. Die späteren Fraktionen enthielten nur noch eine Substanz, die beim Einengen der Lösung kristallisierte. Zum Umkristallisieren wurde sie in wenig Chloroform/Methanol gelöst, die Lösung mit viel Essigester versetzt und der Essigester anschließend i. Vak. teilweise abdestilliert. Nach Zugabe von Petroläther kristallisierte nach einigen Tagen das 4.6-Dihydroxy-2-amino-7-[α,β -dihydroxy- β -methylmercapto-propyl]-pteridin-diacetat (IV) in gelben Prismen aus. Ausb. 290 mg (30% d.Th.).

Die Substanz schmolz bei 255–258°, R_F -Wert 0.86, himmelblau. Sie war ziemlich schwer löslich in Essigester, dagegen gut löslich in Wasser, Eisessig und Chloroform.



Die Umsetzung von Äthoxalylaceton mit Methylschwefelchlorid: Zu 87 g (0.55 Mol) Äthoxalylaceton wurden unter lebhaftem Rühren 45 g (0.55 Mol) Methylschwefelchlorid im Verlaufe von 2 Stdn. zutropft. Nach Zusatz der ersten Tropfen begann die Reaktion unter Entfärbung des Methylschwefelchlorids, einige Zeit

später setzte auch die Chlorwasserstoff-Entwicklung ein. Da sich die Reaktionsmischung erwärmte und dunkel färbte, wurde mit Wasser gekühlt. Sie wurde über Nacht stehen gelassen, der gebildete Chlorwasserstoff mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und dann auf 100° erwärmt. Dabei ging eine kleine Menge unangenehm riechender Reaktionsprodukte über. Bei 1 Torr destillierte erst eine größere Menge unveränderten Ausgangsmaterials über, Sdp.₁ 47°, dann folgte eine sehr geringe Menge einer fest werdenden Substanz und schließlich in größeren Mengen 2 Flüssigkeiten. Bei 57°/1 Torr ging der α,γ -Diketo- β -methylmercapto-valeriansäure-äthylester (VIII) als gelbes Destillat über, anschließend bei 78°/1 Torr der farblose α -Hydroxy- α -methylmercapto- β -chlor- γ -keto-valeriansäure-äthylester (IX).

Ester VIII: $d_{16.5}^{18.5}$ 1.1703, $n_D^{16.5}$ 1.5020, Ausb. 18 g (16% d.Th.).

$C_8H_{12}O_4S$ (204.2) Ber. C 47.06 H 5.88 S 15.69 Gef. C 47.30 H 6.07 S 15.38

Acetylbestimmung nach Kuhn-Roth: % Acetyl ber. 42.16, gef. 39.36.

Ester IX: d_{20}^{20} 1.2660, n_D^{20} 1.4908, Ausb. 20 g (15% d.Th.).

$C_8H_{13}O_4ClS$ (240.5) Ber. C 39.92 H 5.41 Cl 14.76 S 13.31

Gef. C 40.20 H 5.72 Cl 14.53 S 13.48

Das Äthoxalylaceton wurde nach der Vorschrift von L. Claisen und N. Stylos⁸⁾, das Methylschwefelchlorid nach H. Brintzinger und Mitarbb.¹⁰⁾ aus Dimethyldisulfid und letzteres nach R. Tschesche und Mitarbb.¹⁾ aus Methylrhodanid hergestellt.

4.6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto-acetonyl]-pteridin (VI): 239 mg (1 mMol) 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin-sulfat wurden in 35 ccm siedendem Wasser gelöst, mit 136 mg kristallisiertem Natriumacetat (1 mMol) und 204 mg α,γ -Diketo- β -methylmercapto-valeriansäure-äthylester (VIII) versetzt. Nach 20 Min. langem Sieden unter Rückfluß begann ein hellgelber krist. Niederschlag auszufallen. Nach 1½ Stdn. wurde die Reaktion abgebrochen und die Fällung noch heiß abfiltriert. Ausb. 104 mg (37% d.Th.). Beim Abkühlen der Lösung fielen aus der Mutterlauge noch beträchtliche Mengen eines Gemisches verschiedener Pteridine aus.

Die Verbindung bildete kugelige Aggregate, löslich in verd. Laugen, schwerlöslich in verd. Säuren, R_F -Wert 0.24, dunkelorange. Zur Analyse wurde die Substanz acetyliert.

Diacetat von VI: 50 mg VI wurden fein gepulvert in 15 ccm siedendes Acetanhydrid gegeben. Die Substanz löste sich nach wenigen Min. zum größten Teil auf, eine kleine Menge Ungelöstes wurde abfiltriert und die Lösung schnell bei 12 Torr eingedampft. Der Rückstand wurde in 1.5 ccm heißem Eisessig aufgenommen und die Lösung erkalten gelassen. Ausb. 40 mg (62% d.Th.); gelbe, schräg abgeschnittene lange Prismen, die sich bei 313° zersetzen, aber schon bei 270° ein Sublimat zu bilden beginnen. R_F -Wert 0.37, dunkelorange.

$C_{14}H_{15}O_5N_5S$ (365.4) Ber. C 46.03 H 4.11 N 19.18 S 8.77

Gef. C 46.20 H 3.72 N 19.87 S 8.86

4.6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto- β -hydroxy-propyl]-dihydropteridin: Die Lösung von 400 mg VI in 120 ccm n_{10} NaOH wurde mit 100 mg Natriumborhydrid und 24 Stdn. später nochmals mit 100 mg Natriumborhydrid versetzt. Nach 36 Stdn. wurde die Lösung mit Essigsäure auf p_H 6 gebracht. Es kristallisierten 270 mg weiße Nadeln aus (68% d.Th.). Zur Analyse wurde die Substanz aus Wasser umkristallisiert. Sie schmolz nicht bis 350°, vorher trat aber schon Dunkelfärbung ein. Aus Wasser kristallisierte ein Monohydrat aus, R_F -Wert 0.24, dunkelorange (die Fluoreszenz war sehr schwach).

$C_{10}H_{15}O_5N_5S + H_2O$ (303.2) Ber. C 39.60 H 5.61 N 23.10 S 10.56

Gef. C 40.47 H 5.63 N 23.15 S 10.76

4.6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto- β -hydroxy-propyl]-pteridin (XI): Zu einer Lösung von 500 mg (1.56 mMol) 4.6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto- β -hydroxy-propyl]-dihydropteridin in 70 ccm n_{10} NaOH wurde in einer Hydrierapparatur eine Aufschlammung von 125 mg Platinoxid in 10 ccm n_{10} NaOH gegeben; das Platinoxid war vorher mit Wasserstoff reduziert und anschließend einige Zeit mit Sauerstoff geschüttelt worden. Nachdem unter Rühren bei leichtem

¹⁰⁾ Chem. Ber. 83, 87 [1950].

Sauerstoffüberdruck nach etwa 45 Min. 20.7 ccm (0.825 mMol bei 25°/755 Torr) Sauerstoff aufgenommen worden waren, wurde die Reaktion unterbrochen und das Platin abfiltriert. Die Lösung wurde mit Essigsäure neutralisiert und nach Entfernung einiger abgeschiedener Flocken bei 12 Torr bis auf 15 ccm eingengt. Dabei fielen 400 mg (80% d.Th.) der Verbindung XI aus. In einigen Fällen schied sich die Verbindung aus dem eingengten Filtrat über Nacht in knolligen Aggregaten aus, einmal auch in schönen rechteckigen Platten. Sie schmolz bis 350° nicht, verfärbte sich aber ab 280°. Sie war leicht löslich in verd. Säuren und Laugen, mäßig löslich in Wasser und in Butanol, R_F -Wert 0.68, gelb.

$C_{10}H_{13}O_3N_5S$ (283.2) Ber. C 42.40 H 4.59 N 24.73 S 11.31

Gef. C 42.18 H 4.75 N 24.36 S 11.20

Diacetat von XI: 30 ccm Acetanhydrid wurden zum Sieden erhitzt, dann wurde die Flamme entfernt, 90 mg fein gepulvertes Pteridin XI zugesetzt, umgeschüttelt und das Ungelöste abfiltriert. Das Filtrat wurde schnell bei 12 Torr eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform-Methanol gelöst und die Lösung bis zur Trübung mit Petroläther versetzt. Nach einigen Tagen hatten sich 50 mg gelbe Warzen abgeschieden (41% d.Th.). Sie wurden aus Aceton-Petroläther unter Zusatz von etwas feuchtem Äther umkristallisiert. Nach mehreren Tagen wurden gelbe, schräg abgeschnittene Platten oder Säulen erhalten. Schmp. 151–153°, R_F -Wert 0.85, blau. Die Verbindung kristallisierte als Monohydrat.

$C_{14}H_{17}O_5N_5S + 1 H_2O$ (385.3) Ber. C 43.64 H 4.93 N 18.18 S 8.31

Gef. C 43.80 H 4.98 N 18.62 S 8.68

4-Hydroxy-2-amino-4'-methylmercapto-5'-methyl-[thiophano-2',3':6,7-pteridin] (XIV): 750 mg XI wurden mit einer Mischung aus 7 g Thioacetamid und 3 g Thioharnstoff verrieben und geschmolzen. Dann wurde bei 100° 1 g Diphosphorpentasulfid zugesetzt und die Schmelze 8 Min. auf dieser Temperatur gehalten. Nach dieser Zeit war papierchromatographisch kein Ausgangsmaterial mehr nachweisbar. Die Schmelze wurde unter einer CO_2 -Atmosphäre in eine Schale gegossen, nach dem Abkühlen wurde sie zerkleinert und in Wasser aufgenommen. Es wurde Natriumacetat bis zur neutralen Reaktion hinzugefügt und das Ungelöste abzentrifugiert. Die so erhaltenen 350 mg Rohprodukt wurden in 80 ccm n_{10} NaOH gelöst, die Lösung filtriert und das Filtrat in 24 ccm 2*n* H_2SO_4 eingetragen. Dabei schieden sich größere Mengen dunkelbrauner Flocken aus, die abzentrifugiert wurden. Die verbleibende Lösung wurde nun mit Äther extrahiert und die wäßr. Lösung mit Natriumacetat bis zur neutralen Reaktion versetzt. Dabei fielen 80 mg des gesuchten Stoffes in gelben Flocken aus, die jedoch noch nicht ganz einheitlich waren. Durch mehrfaches Umfällen wurde das Thiophano-pteridin gereinigt und schließlich durch Eingießen der schwefelsauren Lösung in siedende Natriumacetat-Lösung kristallisiert erhalten. Es schmolz bis 350° nicht, war in Wasser und in organischen Lösungsmitteln sehr schwer, in verd. Säuren oder Laugen leicht löslich. R_F -Wert 0.26 beim Auftragen in n_{10} NaOH, 0.35 in 2*n* H_2SO_4 , blaugrün.

$C_{10}H_{11}ON_5S_2$ (281.3) Ber. N 24.91 Gef. N 24.23

Da die Kristallisation sehr schwierig war und mit schlechter Ausbeute verlief, wurde die Substanz acetyliert.

Diacetat von XIV: 100 mg der vorgereinigten Verbindung XIV wurden sehr fein gepulvert und in 100 ccm siedendes Acetanhydrid eingetragen. Es wurde kurz aufgeköcht, von Ungelöstem abfiltriert und das überschüssige Acetanhydrid bei 12 Torr schnell abdestilliert. Der Rückstand wurde in Chloroform-Methanol aufgenommen; auf Zusatz von Petroläther trat jedoch keine Kristallisation ein. Deshalb wurde die Substanz durch Verteilungschromatographie an Cellulosepulver gereinigt. Zur Vorreinigung diente das Lösungsmittelgemisch Chloroform-Butanol-Wasser-Formamid (1:1:1:1).

7 g Cellulosepulver wurden mit Methanol in eine Säule von 1 cm Durchmesser und 30 cm Länge eingeschlammmt. Dann wurde mit der mehr wäßrigen Phase des Lösungsmittelgemisches das Methanol aus der Säule verdrängt. Die Substanz (40 mg) wurde in wenig der Chloroformphase gelöst, die Lösung auf die Säule gebracht und mit der Chloroformphase entwickelt. Die ablaufenden Fraktionen wurden papierchromatographisch unter-

sucht, die einheitlichen Anteile vereinigt und die Lösung anschließend gründlich mit Wasser ausgeschüttelt, um das Formamid zu entfernen. Da der Rückstand der Chloroform-Lösung nach dem Eindampfen noch immer nicht kristallisierte, wurde die Chromatographie mit dem Lösungsmittelpaar Chloroform-Wasser wiederholt. Diesmal wurde die Chloroformphase als stationäre benutzt, während die wäßr. Phase zum Entwickeln verwendet wurde. Dabei erwies es sich als zweckmäßig, beim Einschlänmen mit Chloroform das Cellulosepulver mechanisch etwas zusammen zu pressen, weil sonst beim Aufgießen des Wassers leicht größere Chloroformtropfen in der Säule entstanden. So gelang eine völlige Reinigung, und das Acetat kristallisierte beim Eindampfen der Lösung. Es wurde noch einmal aus dem Gemisch Chloroform-Methanol-Petroläther umkristallisiert. So wurden rechteckige, in der Mitte verdickte gelbe Platten vom Schmp. 237–239° erhalten, R_F -Wert 0.39, blau.

$C_{14}H_{15}O_5N_5S_2$ (365.3) Ber. C 46.03 H 4.11 N 19.18 Gef. C 45.83 H 3.85 N 19.59

Kaliumpermanganat-Reaktion: 1 mg der zu untersuchenden Substanz wurde in 2 ccm 2n H_2SO_4 gelöst, die Lösung mit einigen Tropfen n_{10} $KMnO_4$ versetzt und 3 Min. stehen gelassen. Dann wurde das überschüss. Permanganat durch einige Tropfen Perhydrol entfärbt. Gegen überschüssiges Permanganat waren nur die Thiophano-pteridine und das Urothion unter Ausbildung moosgrüner Fluoreszenzen stabil, gegen nicht ausreichende Mengen auch noch das 4.6-Dihydroxy-2-amino-7-[α -methylmercapto-acetonyl]-pteridin sowie dessen Acetat. Bei den anderen untersuchten Substanzen gelang es nicht, die Oxydationsprodukte auf dem Papier bei der Chromatographie durch ihre Fluorescenz wieder zu finden; in der Lösung ließ sich allerdings noch eine lichtschwache Fluorescenz beobachten.

Substanz	Fluorescenz vor d. Oxydation	nach d. Oxydation	R_F -Wert d. Oxydationsprod.
Urothion	farblos	moosgrün	0.37, blaugrün
IV	gelb	blau (schwach)	—
II	orangegelb	moosgrün	0.51, blau
VI	farblos	moosgrün	0.48, moosgrün
VIa	schwach gelb	grünblau	0.70, moosgrün
XI	farblos	grünblau	—
XIa	farblos	fahlgelb	—
XIV	dunkelgelb	moosgrün	0.53, blau
XIVa	schwach gelb	hellblau	0.70, dunkelblau

Die mit dem Buchstaben a bezeichneten Substanzen sind Acetate.

Hydrolyseversuche

20 Stdn. bei 20°

Substanz	n_{10} NaOH	2n NaOH	n_{10} H_2SO_4	2n H_2SO_4
II	stabil	stabil	stabil	stabil
VI	50-proz. Hydrol.	80-proz. Hydrol.	nicht gelöst	30-proz. Hydrol.
XI	30-proz. Hydrol.	90-proz. Hydrol.	stabil	stabil
XIV	stabil	stabil	stabil	stabil

dasselbe 1 Stde. bei 95°

II	stabil	10-proz. Hydrol.	stabil	stabil
VI	80-proz. Hydrol.	100-proz. Hydrol.	30-proz. Hydrol.	50-proz. Hydrol.
XI	100-proz. Hydrol.	100-proz. Hydrol.	20-proz. Hydrol.	30-proz. Hydrol.
XIV	40-proz. Hydrol.	80-proz. Hydrol.	10-proz. Hydrol.	30-proz. Hydrol.