

ALFRED SCHUBERT, GERHARD LANGBEIN und RUDOLF SIEBERT

## MIKROBIELLE HYDROXYLIERUNG VON STEROOIDEN IN 12- UND 15-STELLUNG

Aus den Wissenschaftlichen Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena  
(Eingegangen am 6. Juni 1957)

Durch mikrobielle Umsetzung von Steroiden mit *Calonectria decora* wird die 12- und/oder 15-Stellung hydroxyliert. Die Konstitutionsaufklärung der erhaltenen Reaktionsprodukte wird beschrieben.

Aus den zahlreichen Veröffentlichungen der vergangenen Jahre über mikrobielle Umsetzungen von Steroiden<sup>1)</sup> geht hervor, daß Schimmelpilze einer bestimmten Art gewöhnlich stets die gleiche Stellung am Steroidmolekül stereospezifisch verändern. Allerdings kennt man auch Beispiele, daß Stämme verschiedener Herkunft, aber der gleichen Art mit gleichem Einsatzmaterial unterschiedliche Reaktionsprodukte erzeugen. Beispielsweise hydroxyliert einerseits *Rhizopus nigricans* Ehrenberg<sup>2)</sup> allgemein  $\Delta^4$ -3-Ketosteroide in  $11\alpha$ -Stellung, andererseits wandelt *Fusarium solani* Progesteron sowohl in  $\Delta^{1,4}$ -Androstadien-dion-(3,17)<sup>3)</sup> als auch in  $15\beta$ -Hydroxy-progesteron<sup>4,4a)</sup> um.

Von der Art *Calonectria decora* (Hypocreales) ist bekannt, daß sie in geeigneten Steroiden die  $\Delta^1$ -Doppelbindung einführt. Wir haben jedoch einen Stamm dieser Art gefunden, der die  $12\beta$ - und  $15\beta$ -Stellung im Progesteron hydroxyliert. Eine mikrobielle Substitution der 12-Stellung ist noch nicht beschrieben worden.

Bei der Einwirkung von *Calonectria decora* auf Progesteron (I) entsteht mit einer Ausbeute von über 80% ein Dihydroxy-progesteron (II). Die Konstitution dieser Verbindung (II) wird durch die Elementaranalyse, die UV- und IR-Spektren, die molaren Rotationsdifferenzen, Farbreaktionen sowie durch die Darstellung einiger Derivate und die Synthese des  $11\alpha,15\beta$ -Dihydroxy-progesterons (VI) auf mikrobiellem Wege gesichert.

Die Substanz II kristallisiert aus Aceton in feinen Nadeln oder derben Prismen. Auffallend ist die starke Abhängigkeit des Drehwertes vom Lösungsmittel. Die

<sup>1)</sup> A. WETTSTEIN, Experientia [Basel] **11**, 465 [1955]; S. H. EPPSTEIN, P. D. MEISTER, H. C. MURRAY and D. H. PETERSON, Vitamins and Hormones Vol. XIV, S. 360ff. Academic Press Inc., Publishers, New York 1956; E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Angew. Chem. **69**, 456 [1957].

<sup>2)</sup> D. H. PETERSON und Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. **74**, 5933 [1952]; F. W. KAHNT, CH. MEYSTRE, R. NEHER, E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Experientia [Basel] **8**, 422 [1952]; A. ERCOLI, P. DE RUGGIERI und D. D. MORTE, Gazz. chim. ital. **85**, 628 [1955]; E. TUMOVA, O. SIBLIKOVÁ-ZBUDOVSKA und O. HANČ, Českoslov. Farmac. **4**, 65 [1955].

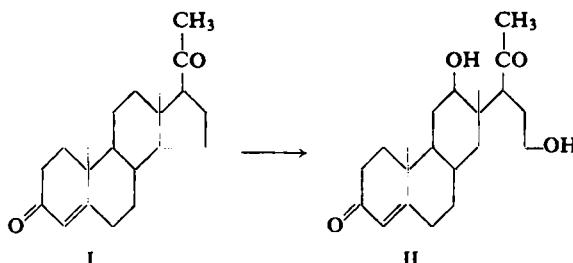
<sup>3)</sup> E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Experientia [Basel] **9**, 371 [1953].

<sup>4)</sup> B. KLÜGER, R. SIEBERT und A. SCHUBERT, Naturwissenschaften **44**, 40 [1957].

<sup>4a)</sup> Die Zuordnung der  $15\beta$ -Hydroxygruppe erfolgte in dieser Arbeit in Anlehnung an die Bezeichnung von J. FRIED und Mitarbb., Recent Progr. Hormone Res. **11**, 149 [1955].

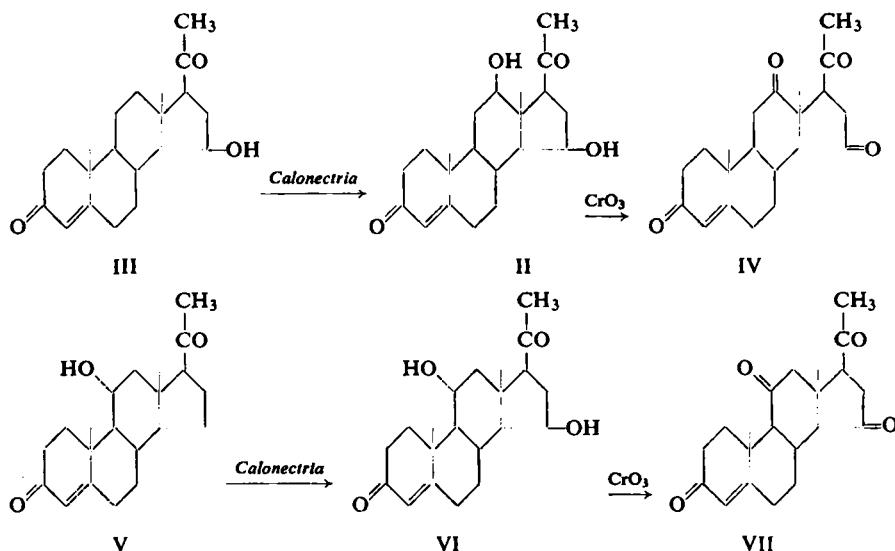
CH. MEYSTRE, E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta **38**, 381 [1955], beweisen, daß der  $15\alpha$ -Hydroxy-Gruppierung von FRIED die  $15\beta$ -Stellung zugeordnet werden muß. Wir verwenden deshalb die Nomenklatur nach WETTSTEIN.

spezifische Drehung beträgt  $[\alpha]_D^{20} : +139 \pm 3^\circ$  in Chloroform und  $+186 \pm 3^\circ$  in Methanol. Nach den Ergebnissen der Elementaranalyse liegt ein Dihydroxy-progesteron der Summenformel  $C_{21}H_{30}O_4$  vor.



Das UV-Spektrum in Äthanol hat bei  $241\text{m}\mu$  ein hohes Absorptionsmaximum ( $\log \epsilon = 4.23$ ), das für  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Ketone charakteristisch ist. Demnach ist die im Ausgangsmaterial I vorhandene  $\Delta^4$ -3-Keto-Gruppierung erhalten geblieben.

Im IR-Spektrum von II, das in Methylchloridlösung aufgenommen wurde, sind Banden bei  $3605$ ,  $1690$  (Schulter),  $1672$ ,  $1622$ ,  $1363$ ,  $1040$  und  $870\text{cm}^{-1}$  vorhanden. Die  $\Delta^4$ -3-Ketobande bei  $1672\text{cm}^{-1}$  ist in ihrer Intensität wesentlich stärker als die Schulter bei  $1690\text{cm}^{-1}$ . Beachtenswert ist die Tatsache, daß diese Schulter, die der 20-Ketogruppe zugeordnet wird, ihr Absorptionsmaximum bei  $1690\text{cm}^{-1}$  besitzt, während das Absorptionsmaximum bei  $1710\text{cm}^{-1}$  erwartet wird. Diese Rotverschiebung um  $20\text{cm}^{-1}$  deutet darauf hin, daß eine Wechselwirkung einer Hydroxylgruppe mit der 20-Ketogruppe stattfindet. Ähnliche Rotverschiebungen werden beobachtet zwischen Keto- und Hydroxylgruppen bei Hydroxyanthrachinonderivaten<sup>5)</sup>.



<sup>5)</sup> Methoden der organ. Chemie (Houben-Weyl), 4. Aufl., S. 859, Thieme-Verlag, Stuttgart 1955.

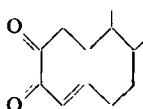
mit Nahstellung der funktionellen Gruppen. Auf Grund des negativen Ausfalls der PORTER-SILBER-Reaktion<sup>6)</sup> scheidet die Substitution in 16- und 17-Stellung in II aus.

Das Dihydroxy-progesteron II wird durch Einwirkung von Chromsäureanhydrid in Eisessig bei Zimmertemperatur in die Substanz IV übergeführt, deren IR-Spektrum keine Hydroxylbanden besitzt. Außerdem bildet IV keine Alkalosalze und enthält demnach keine Carboxylgruppe.

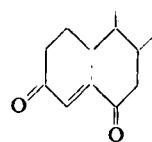
Im IR-Spektrum werden Carbonylbanden festgestellt bei  $1748\text{cm}^{-1}$  (stark),  $1717\text{cm}^{-1}$  (sehr stark) und  $1682\text{cm}^{-1}$  (stark). Dabei fällt besonders auf, daß die im Ausgangsmaterial II bei  $1690\text{cm}^{-1}$  vorhandene Schulter nach  $1717\text{cm}^{-1}$  verschoben ist und gleichzeitig die Carbonylbande der  $\Delta^4$ -3-Ketogruppe bei  $1682\text{cm}^{-1}$  an Intensität übertrifft.

Wir schließen aus dem Intensitätsverhältnis der Banden bei  $1682\text{cm}^{-1}$  und bei  $1717\text{cm}^{-1}$ , daß die sehr starke Absorption bei  $1717\text{cm}^{-1}$  durch mindestens 2 Carbonylgruppen hervorgerufen wird. Die Bande bei  $1748\text{cm}^{-1}$  ist nach Lage und Intensität typisch für ein 5-Ring-Keton<sup>7)</sup>. Damit wird die Existenz einer vierten Carbonylgruppe in IV bewiesen. Die Verbrennungswerte bestätigen die Summenformel eines Pregnentetraons  $C_{21}H_{26}O_4$ . Das UV-Spektrum dieses Pregnentetraons besitzt ein Absorptionsmaximum bei  $238\text{m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.20$ ). Demnach ist durch die Oxydation das  $\Delta^4$ -3-Ketosystem des Ausgangsmaterials II erhalten geblieben.

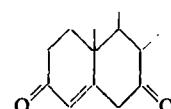
Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß in alkalischer Methanolösung keine Veränderung in der Lage und Höhe des Absorptionsmaximums des Pregnentetraons IV eintritt. Aus der Literatur<sup>8, 9, 10)</sup> ist bekannt, daß die Systeme VIII – XI charakteristische UV-Absorptionsmaxima sowohl in Alkohol als auch in alkalischem Alkohol besitzen, die von IV verschieden sind.



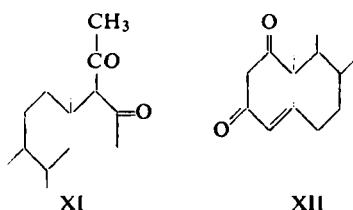
VIII



IX



X



XII

<sup>6)</sup> C. C. PORTER und R. H. SILBER, J. biol. Chemistry **185**, 201 [1950]; R. H. SILBER und C. C. PORTER, ebenda **210**, 923 [1954].

<sup>7)</sup> R. H. JONES, D. HUMPHRIES und K. DOBRINGER, J. Amer. chem. Soc. **72**, 956 [1950].

<sup>8)</sup> C. W. GREENHALGH, H. B. HENBEST und E. R. H. JONES, J. chem. Soc. [London] **1952**, 2375.

<sup>9)</sup> E. T. STILLER und O. ROSENHEIM, J. chem. Soc. [London] **1938**, 383.

<sup>10)</sup> G. BERNSTEIN, H. HELLER und ST. M. STOLAR, J. Amer. chem. Soc. **77**, 5327 [1955].

Die nicht bekannte Gruppierung XII schließen wir aus Analogiegründen aus, weil dieses 1,3-Diketon in alkalischem Alkohol ebenfalls ein starkes UV-Absorptionsmaximum zwischen 280 und 320 m $\mu$  haben müßte. Damit können die Carbonylgruppen unseres Pregnentetraons IV nicht an den C-Atomen 1, 2, 6, 7 und 16 stehen. Die Substitution der 15-Stellung ist durch den Ausschluß der 16-Stellung bereits indirekt bewiesen.

Zur Aufklärung der sterischen Anordnung der 15-ständigen Hydroxylgruppe und zur Festlegung der Stellung der zweiten Hydroxylgruppe der Substanz II, die entweder an C-11 oder an C-12 stehen muß, werden mikrobielle Reaktionen herangezogen.

$15\beta$ -Hydroxy-progesteron (III)<sup>4)</sup> wird bei Einwirkung von *Calonectria decora* in fast quantitativer Ausbeute in das Dihydroxy-progesteron II umgewandelt. Bis jetzt ist in der Literatur in der Steroidreihe noch kein Fall bekannt, daß durch mikrobielle Umsetzung eine Inversion von Hydroxylgruppen stattfindet. Wir ordnen deshalb der 15-ständigen Hydroxylgruppe in II die  $\beta$ -Stellung zu.

Die Festlegung der zweiten Hydroxylgruppe des Dihydroxy-progesterons (II) wird experimentell indirekt dadurch bewiesen, daß in dieser Substanz die 11-Stellung nicht substituiert ist. Bei der durch *Calonectria decora* bewirkten Umwandlung des  $11\alpha$ -Hydroxy-progesterons (V) wird nach den Ergebnissen der Elementaranalyse nur eine Hydroxylgruppe zusätzlich in das Molekül eingeführt. Es wird ein Dihydroxy-progesteron (VI) isoliert, dessen physikalische Konstanten sich von denen des Dihydroxy-progesterons II wesentlich unterscheiden.

Daten der dargestellten Steroide

	Schmp.	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	IR-Banden in cm <sup>-1</sup> (in Methylenchlorid) *)
$12\beta,15\beta$ -Dihydroxy-progesteron (II)	218°	+186° (CH <sub>3</sub> OH)	3605, 1690, 1672, 1622, 1363, 1040, 870
$11\alpha,15\beta$ -Dihydroxy-progesteron (VI)	182°	+180° (CH <sub>3</sub> OH)	3600, 1710, 1670, 1620, 1360, 1060
Pregnentetraon-(3.12.15.20) (IV)	208 – 212°	+249° (CHCl <sub>3</sub> )	1748, 1712, 1676, 1622, 1362, 1168, 1110
Pregnentetraon-(3.11.15.20) (VII)	217 – 225°	+325° (CHCl <sub>3</sub> )	1750, 1715, 1682, 1625, 1210

Die Verbindung VI wird durch Einwirken von Chromsäureanhydrid in Eisessig bei Zimmertemperatur in ein Pregnentetraon (VII) umgewandelt, dessen UV-Spektrum in neutraler und alkalischer Alkohollösung mit dem von IV identisch ist.

Im IR-Spektrum stimmen beide Pregnentetraon-Verbindungen im Bereich der Ketobanden überein. Sie unterscheiden sich jedoch wesentlich im Fingerprintbereich. Substanz VII schmilzt um ca. 10° höher und hat eine um 76° höhere spezifische Drehung. Beide Pregnentetraon-Verbindungen (IV und VII), von denen VII in 11-Stellung substituiert ist, sind keinesfalls identisch. Verbindung VII ist  $\Delta^4$ -Pregnentetraon-(3.11.15.20). Das bedeutet, daß die vierte Carbonylgruppe im Pregnentetraon IV in 12-Stellung steht.

\*) Sämtliche IR-Spektren wurden mit dem Zeiß-UR 10-Gerät aufgenommen.

Die sterische Zuordnung der  $12(\xi)$ -Hydroxylgruppe von II wird unter Anwendung der Methode der molaren Rotationsdifferenzen gelöst.

M. SORKIN und T. REICHSTEIN<sup>11)</sup> haben die molaren Rotationsdifferenzen der in 12-Stellung epimeren  $3\alpha,12\beta$ -Dihydroxy-ätiocolansäure-methylester und  $3\alpha,12\alpha$ -Dihydroxy-ätiocolansäure-methylester bestimmt. Die  $12\alpha$ -Hydroxyverbindung hat  $[M]_D: +362^\circ$  in Methanol und die  $12\beta$ -Hydroxyverbindung hat  $[M]_D: +182^\circ$  in Methanol. Die molare Rotationsdifferenz  $\Delta[M]_D$  für den Übergang der  $12\alpha$ -Hydroxy- nach der  $12\beta$ -Hydroxygruppe beträgt  $-180^\circ$ . Für den Übergang der Methylengruppe am C-Atom 12 des Sterinskeletts in die  $12\alpha$ -Hydroxy-Gruppierung wird aus bekannten Verbindungen ein molarer Drehungsbeitrag von  $+76^\circ$  in Aceton berechnet.

Für die Verbindung II wird unter Berücksichtigung des Drehungsbeitrages der  $15\beta$ -Hydroxylgruppe für die  $12(\xi)$ -Hydroxylgruppe ein molarer Drehungsbeitrag von  $-90^\circ$  in Methanol festgestellt. Die Hydroxylgruppe am C-Atom 12 der Verbindung II kann infolgedessen nicht die  $\alpha$ -Stellung einnehmen. Der Unterschied zwischen dem berechneten molaren Drehungsbeitrag der  $12\alpha$ -Hydroxylgruppe von  $+76^\circ$  in Aceton und dem gemessenen Wert für die  $12(\xi)$ -Hydroxylgruppe der Verbindung II von  $-90^\circ$  in Methanol beträgt  $166^\circ$ . Dieser Wert stimmt in der Richtung und in der Größenordnung gut überein mit den von SORKIN und REICHSTEIN gemessenen Werten.

Die von uns auf mikrobiellem Wege dargestellte Verbindung II ist  $A^{4-}12\beta,15\beta$ -Dihydroxy-pregnendion-(3,20).

Wir danken Herrn Dr. K. HELLER und Frl. U. WAGNER für die Aufnahme der IR-Spektren, Frl. CH. DAMKER und Frl. A. WENDA für die Messung der UV-Spektren sowie für die Durchführung der präparativen Arbeiten.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

**1. Fermentation:** Die mikrobiellen Umsetzungen werden in einer Rührapparatur von 6 l Inhalt, in der 4 l Nährlösung enthalten sind, durchgeführt. Die Belüftung geschieht durch eine G2-Fritte, die am Ende des hohlen Rührers angebracht ist. Belüftet wird mit 100 l Luft/Stde. bei 200 Umdrehungen des Rührers in der Minute.

Das Impfmaterial des Pilzes *Calonectria decora* wird in einem 500-ccm-Schüttelkolben auf 200ccm der üblichen Czapek Dox-Nährösung, der 0.5% Maisquellwasser zugegeben wurde, angezogen. Nach 3 bis 4 Tagen wird es unter sterilen Bedingungen in die oben beschriebene Rührapparatur auf 4 l Nährösung übergeführt. Nach weiterem 48 stdg. Wachstum werden 2 g des Ausgangsmaterials, mit 2 g Tween 80 in 50ccm Aceton gelöst, zugegeben. Es ist zweckmäßig, die Hydroxylierung papierchromatographisch zu kontrollieren. Normalerweise ist das zugegebene Steroid nach 48 stdg. Fermentation vollkommen umgesetzt.

Das Mycel wird von der Nährösung durch Zentrifugieren getrennt, getrocknet, fein pulvriert und mit Methylenechlorid erschöpfend extrahiert. Das Kulturfiltrat wird 4 mal mit 1.5 l Methylenchlorid extrahiert, sämtliche Extrakte werden vereinigt, getrocknet und eingeengt.

**2.  $12\beta,15\beta$ -Dihydroxy-progesteron (II):** Aus 2 g Progesteron (I) werden nach der oben beschriebenen Methode 3 g Rohextrakt erhalten, der teilweise kristallisiert. Nach Zugabe von 5ccm Aceton kristallisieren 1.7 g II vom Schmp. 214–216° aus. Nach Umkristallisieren aus Aceton erhält man Prismen vom Schmp. 218°.

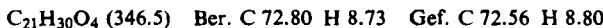
<sup>11)</sup> Helv. chim. Acta 29, 1218 [1946].

Substanz II wird ebenfalls erhalten, wenn 2.0 g *15β-Hydroxy-progesteron* (III) in gleicher Weise umgesetzt werden.

Zur Analyse wird 2 Stdn. bei 78° i. Vak. getrocknet.  $[\alpha]_D^{25}: +139 \pm 3^\circ$  (in  $\text{CHCl}_3$ ),  $+186 \pm 3^\circ$  (in Methanol).

*UV-Spektrum* in Äthanol:  $\lambda_{\text{max}} = 241 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.23$ ).

*IR-Spektrum*: siehe Tab.



Aus den Mutterlaugen können durch Chromatographie an Silicagel und Elution mit Chloroform-Aceton-Gemisch noch 120 mg II erhalten werden.

3. *11a,15β-Dihydroxy-progesteron* (VI): Der nach der biologischen Umsetzung aus 2 g *11a-Hydroxy-progesteron* (V) erhaltene und eingeengte Extrakt kristallisiert nicht spontan. Er wird mehrmals in Chloroform gelöst, wieder eingedampft und zuletzt in 400 ccm Chloroform aufgenommen. Die Lösung wird auf eine Säule gebracht, die mit 450 g gut getrocknetem Silicagel beschickt ist.

Die Elution geschieht mit Chloroform-Aceton-Gemisch, bei dem der Acetongehalt ständig gesteigert wird. Jedes Eluat umfaßt 400 ccm, das jeweils in mehreren Körbchen aufgefangen wird.

Man erhält folgende Fraktionen bei:

5 % Aceton	95 % Chloroform	Öl
10 % Aceton	90 % Chloroform	Antischaummittel
15 % Aceton	85 % Chloroform	Tween 80

usw. bis

60 % Aceton	40 % Chloroform	Kristalle
-------------	-----------------	-----------

Die zusammengehörigen Fraktionen werden vereinigt und aus Essigester umkristallisiert. Man erhält vorzüglich gewachsene, stark lichtbrechende Prismen, deren Kantenlänge bis zu 4 mm beträgt. Schmp. 182–183°. Zur Analyse wird 2 Stdn. i. Vak. getrocknet.  $[\alpha]_D^{24}: +180 \pm 3^\circ$  (in Methanol).

*UV-Spektrum* in Äthanol:  $\lambda_{\text{max}} = 243 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.21$ ).

*IR-Spektrum*: siehe Tab.



4. *A<sup>4</sup>-Pregnentetraen-(3.12.15.20)* (IV): 1 g *12β,15β-Dihydroxy-progesteron* (II) wird in 15 ccm 90-proz. Essigsäure gelöst, auf +10° abgekühlt und bei dieser Temperatur mit 4 Äquivv.  $\text{CrO}_3$  in 10 ccm Essigsäure versetzt. Nach 6 stdg. Röhren bei 10° wird unter Turbinieren mit  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung die Essigsäure weitgehend abgestumpft, so daß die Lösung noch schwach sauer ( $p_H \approx 6$ ) reagiert. Man extrahiert mehrmals mit Essigester oder Chloroform, wäscht die vereinigten organischen Phasen mit Wasser, trocknet über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und engt i. Vak. ein. Der teilweise kristalline Rückstand beträgt 0.78 g. Er wird in Isopropylalkohol aufgenommen und zur Kristallisation bei –10° stehengelassen. Man erhält 0.65 g vom Schmp. 204–211°. Aus der Mutterlauge werden weitere 0.05 g vom Schmp. 198–202° isoliert. Nach nochmaliger Umkristallisation beider Kristallfraktionen aus Isopropylalkohol schmilzt die Substanz bei 208–212°. Zur Analyse wird 2 Stdn. bei 78° i. Vak. getrocknet.  $[\alpha]_D^{23}: +249 \pm 3^\circ$  (in Chloroform).

*UV-Spektrum* in Äthanol:  $\lambda_{\text{max}} = 238 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.20$ ).

*IR-Spektrum*: siehe Tab.



5. *Δ<sup>4</sup>-Pregn-en-tetraen-(3.11.15.20) (VII)*: 305 mg *11a,15β-Dihydroxy-progesteron (VI)* werden in 3.05 ccm 80-proz. Essigsäure gelöst, auf +15° abgekühlt, mit 1.22 ccm Chromsäurelösung versetzt und 4 Stdn. bei dieser Temperatur oxydiert. Nach der unter IV beschriebenen Aufarbeitung werden aus Isopropylalkohol farblose Kristalle vom Schmp. 217–225° erhalten. Die Ausbeute beträgt 160 mg. Zur Analyse wird 2 Stdn. i. Vak. getrocknet.  $[\alpha]_D^{24} : +325 \pm 3^\circ$  (in Chloroform).

*UV-Spektrum* in Äthanol:  $\lambda_{\text{max}} = 238 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.18$ ).

*IR-Spektrum*: siehe Tab.

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub> (342.4) Ber. C 73.66 H 7.65 Gef. C 73.42 H 7.70

WOLFGANG PFLEIDERER

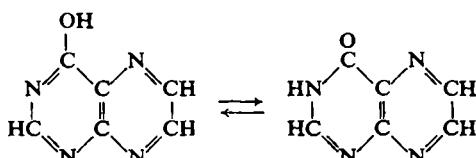
### Pteridine, I

## ÜBER 2.4-DIOXO-TETRAHYDROPTERIDINE \*

Aus dem Institut für Organische Chemie und Organisch-Chemische Technologie  
der Technischen Hochschule Stuttgart  
(Eingegangen am 3. Juli 1957)

Es wird gezeigt, daß das Lumazin in wäßrigem Medium als 2.4-Dioxo-tetrahydropteridin zu formulieren ist. Die Ionisation der H-Atome erfolgt in erster Stufe vom N-1- und in zweiter vom N-3-Atom.

Die Atomanordnung im Pteridinmolekül hat zur Folge, daß sich in den Mono- und Polyhydroxyderivaten die Hydroxygruppen stets in  $\alpha$ -Stellung zu einem Ringstickstoffatom befinden. Die Hydroxypteridine stellen demzufolge cyclische Säureamide dar, deren Struktur naturgemäß das Problem der Lactam-Lactim-Tautomerie der Carbonsäureamide aufwirft.



Da die Monohydroxypteridine<sup>1–5)</sup> schon eingehend untersucht worden sind, haben wir unsere Untersuchungen am Lumazin, dem 2.4-Dihydroxy-pteridin (I), begonnen, mit dem Ziel, die Struktur des Neutralmoleküls in wäßrigem Medium sowie die Reihenfolge der Ionisation der H-Atome zu bestimmen. Die Darstellung sämtlicher

\* ) Wir verwenden die international eingeführte amerikanische Bezeichnung des Pteridin-systems.

- 1) A. ALBERT, D. J. BROWN und G. CHEESEMAN, J. chem. Soc. [London] 1951, 474.
- 2) A. ALBERT, D. J. BROWN und G. CHEESEMAN, J. chem. Soc. [London] 1952, 1620.
- 3) A. ALBERT, D. J. BROWN und G. CHEESEMAN, J. chem. Soc. [London] 1952, 4219.
- 4) A. ALBERT, D. J. BROWN und H. C. S. WOOD, J. chem. Soc. [London] 1956, 2066.
- 5) D. J. BROWN und S. F. MASON, J. chem. Soc. [London] 1956, 3443.