

HEINZ REMBOLD und HANS JOSEF SCHRAMM<sup>1)</sup>

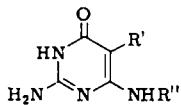
## Kondensation des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins mit Aldosen<sup>2)</sup>

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München

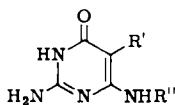
(Eingegangen am 17. Mai 1963)

Bei der Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (Ia) mit D-Glucose, D-Mannose, D-Galaktose und D-Ribose entstehen in wäßrigem Äthanol unter saurer Katalyse N-Acetale vom Typ Va. Diese Glykosylamine geben keine Amadori-Umlagerung und spalten bei der Einführung einer Stickstoff-Funktion (z. B. durch Nitrosieren) den Zuckerrest fast völlig ab. In geringer Menge konnte das 5-Nitroso-4-galaktosylamino-pyrimidin gefaßt werden. D-Glucose und D-Mannose sowie eine Reihe von Aldehyden (Formaldehyd, Malondialdehyd u. ä.) reagieren mit dem Aminopyrimidin Ia unter C-Alkylierung in Stellung 5 des Pyrimidinringes. Die Fähigkeit von weiteren substituierten Pyrimidinen (VI—XVI) zur C-Alkylierung und zur N-Acetalbildung bei der Umsetzung mit Aldosen wird untersucht. Nur bei Kondensation des 2-Dimethylamino-pyrimidins IX und des 4-Benzylamino-pyrimidins VIII mit Aldosen entstehen isomerisierbare Reaktionsprodukte.

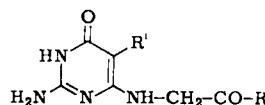
Im Rahmen von Untersuchungen zur Darstellung reiner Polyhydroxyalkyl-pterine, die kürzlich zur Reindarstellung von Biopterin und 7-Biopterin<sup>3)</sup> sowie der vier isomeren 6-Trihydroxypropyl-pterine<sup>4)</sup> führten, haben wir auch versucht, diese Verbindungen nach folgendem Plan darzustellen.



- Ia: R' = H, R'' = H
- b: R' = NO, R'' = H
- c: R' = NH<sub>2</sub>, R'' = H
- d: R' = D-Glucosyl, R'' = H
- e: R' = Tetraacetyl-D-glucosyl, R'' = Ac
- f: R' = CH<sub>2</sub>OH, R'' = H
- g: R' = -CH=CH-CH(OH)-R'', R'' = H
- h: R' = H, R'' = Ts

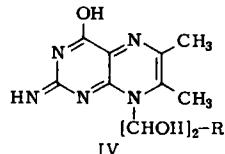


- IIa: R' = H  
R'' = -[CHOH]<sub>2</sub>-R
- b: R' = H  
R'' = -CH<sub>2</sub>-CO-R



- IIIa: R' = NO  
b: R' = NH<sub>2</sub>

R = [CHOH]<sub>2-3</sub>-CH<sub>2</sub>OH



Während man üblicherweise das o-Diamino-pyrimidin Ic in Gegenwart von Hydrazin mit einem Zucker umsetzt und dabei zum Gemisch der isomeren 6- und 7-Polyhydroxyalkyl-pterine gelangt, sollte nunmehr der Zucker zuerst mit dem 4-Amino-

1) H. J. SCHRAMM, Dissertat. Univ. München 1961.

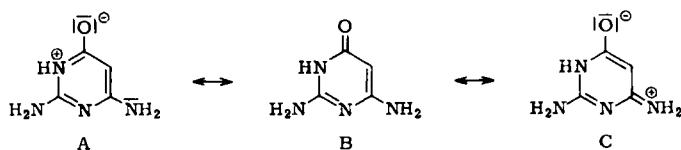
2) Vorl. Mitteil.: H. REMBOLD und H. J. SCHRAMM, Hauptversammlung der Ges. Dtsch. Chem., Stuttgart 1960; Angew. Chem. 72, 578 [1960].

3) H. REMBOLD und H. METZGER, Chem. Ber. 96, 1395 [1963].

4) H. REMBOLD und L. BUSCHMANN, Chem. Ber. 96, 1406 [1963].

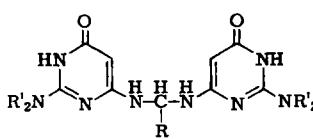
pyrimidin Ia kondensiert und das Glykosid IIa durch Amadori-Umlagerung stabilisiert werden (IIb). Dann sollte über dessen Nitrosoproduct IIIa die Aminogruppe in die Stellung 5 eingeführt werden (IIIb).

Bei Arbeiten über die Synthese von Purinnucleosiden hat TODD<sup>5)</sup> vergeblich versucht, 4-Glykosylamino-pyrimidine des Typs IIa darzustellen. Im Pyrimidin Ia erniedrigt die elektronenanziehende Carbonylgruppe in Stellung 6 die Basizität der 4-Aminogruppe infolge der vinylogen Säureamidmesomerie  $B \leftrightarrow C$  und erschwert dadurch die Bildung eines Aminoglykosids. Andererseits ist aber der Einfluß der Carbonylgruppe durch die gleichzeitig mögliche Säureamidmesomerie mit dem Stickstoffatom 1 ( $A \leftrightarrow B$ ) sicher abgeschwächt.



Die Basizität der 4-Aminogruppe sollte nach diesen Überlegungen zwar erniedrigt sein, aber unter geeigneten Reaktionsbedingungen für eine Kondensation mit Aldosen ausreichen.

Setzt man das Aminopyrimidin Ia in wäßrigem Äthanol und in Gegenwart katalytischer Säuremengen mit *D*-Glucose um, so erkennt man papierchromatographisch neben Ausgangsmaterial stets zwei weitere im UV absorbierende Substanzen, von denen überraschenderweise nur eine nitrosierbar ist. Durch Umfällen und fraktioniertes Lösen konnte eine Komponente als nitrosierbares farbloses Pulver ( $R_F$  0.42), die andere in farblosen Nadeln ( $R_F$  0.62) erhalten werden. Ähnlich lässt sich *D*-Galaktose umsetzen. Hierbei entstehen mindestens zwei nitrosierbare Verbindungen ( $R_F$  0.41 und 0.50), dagegen tritt die nicht nitrosierbare Komponente hier nicht auf. Das Produkt mit  $R_F$  0.41 wurde in farblosen Kristallen isoliert. Nach dessen Hydrolyse mit 0.1*n*  $H_2SO_4$  lässt sich sowohl die freie Base Ia als auch *D*-Galaktose papierchromatographisch nachweisen. Nach den Analysenwerten besitzt diese Verbindung die Struktur eines *N,N'*-Dipyrimidyl-galaktose-*N*-acetals vom Typ Va. Ob auch beim Glucos-Kondensationsprodukt ein solches Acetal vorliegt, kann aus den Analysendaten dieser sehr labilen Verbindungen nicht mit Sicherheit geschlossen werden. Die fast identischen  $R_F$ -Werte sprechen jedoch für die gleiche Struktur. Wie *D*-Galaktose liefert auch *D*-Ribose zwei nitrosierbare Reaktionsprodukte ( $R_F$  0.46 und 0.62). Die Verbindung mit dem niedrigeren  $R_F$ -Wert konnte nach mehrfachem Umfällen aus Wasser umkristallisiert werden und ergab dann Analysenwerte, die ebenfalls für ein Acetal des Typs Va sprechen.



Va: R =  $[CHOH]_{3-4}-CH_2OH$

R' = H

b: R =  $C_6H_5$

R' = H

c: R =  $[CHOH]_4-CH_2OH$

R' =  $CH_3$

<sup>5)</sup> A. R. TODD, J. BADDILEY und B. LYTHGOE, J. chem. Soc. [London] 1943, 571.

Tab. 1. UV-Spektren verschiedener Pyrimidin-Derivate

	H <sub>2</sub> O $\lambda_{\max}$ (m $\mu$ ) (log ε <sub>max</sub> )	0.1 n HCl $\lambda_{\max}$ (m $\mu$ ) (log ε <sub>max</sub> )	0.1 n NaOH $\lambda_{\max}$ (m $\mu$ ) (log ε <sub>max</sub> )
<b>2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (Ia)</b>	210.5 (4.44) 213 (4.44) 271 (4.13)	266.5 (4.14) 239 (3.70) <205 (-)	264 (4.27) 267 (4.21) 216 (4.29) 265 (3.98)
<b>5-D-Glucosyl-pyrimidin Id</b>			262 (3.98)
<b>2-Amino-4-dimethylamino-pyrimidin XIII</b>	224.5 (4.42)	272 (4.31)	210 (4.21) 272 (4.32) 268 (4.14)
<b>2-Amino-4-benzylamino-pyrimidin VIII *)</b>	221 (4.34)	271 (4.18)	(220) (4.26) 265.5 (4.19) 265 (4.08)
<b>5-Nitroso-2-amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin</b>	226 (4.58)	283 (3.85)	(270) (3.83) 320 (4.32)
<b>Pentaacetyl-5-D-glucosyl-pyrimidin Ie *)</b>		226 (4.41) 279 - 280 (3.91)	250 (3.85) 236 (4.16) 280 (3.80) 260 (3.84)
<b>5-D-Mannosyl-pyrimidin, entspr. Id</b>	271 (4.10)	269 (4.18)	238 (3.77) 280 (3.80)
<b>D-Galaktose-N-acetal, entspr. Va</b>	210 (4.64)	273 (4.34)	265 (4.47) 267 (4.25)
<b>D-Ribose-N-acetal, entspr. Va</b>	210 (4.54) 273 (4.24)	(250) (3.96)	265 (4.37) 247 (4.02) 267 (4.19)
<b>4-Tosylamino-pyrimidin Ih</b>	211 (4.48)	266 (4.20)	221 (4.14) 264 (4.29)
<b>2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-5-D-glucosyl-pyrimidin</b>	223.5 (4.54)	276.5 (4.23)	275 (4.30) 270 (4.14)

\*) In Athanolischer Lösung gemessen.

Die IR-Spektren dieser Pyrimidin-Zucker-Verbindungen zeigen im Gegensatz zum Amino-pyrimidin Ia zusätzliche C—O-Valenzschwingungen im Bereich von 9–10  $\mu$ . Das freie Pyrimidin (Ia) besitzt in Wasser zwei UV-Absorptionsmaxima bei 211 und 267 m $\mu$ . Die für *N*-acylierte 4-Amino-6-hydroxy-pyrimidine charakteristische Rotverschiebung<sup>6,7)</sup> ist besonders an der langwelligen Absorption (273 m $\mu$ ) der *N*-Acetale Va deutlich erkennbar (Tab. 1).

Eine der Amadori-Umlagerung IIa → IIb vergleichbare Umwandlung gelang mit keinem der beschriebenen *N*-Acetale Va. Das Amino-pyrimidin Ia wurde deshalb mit 4,6-Benzal-d-glucose zu einem dem *N*-Acetal Va entsprechenden Kondensationsprodukt umgesetzt. Obwohl *N*-Glykoside der Benzalglucose sich besonders leicht umlagern<sup>8)</sup>, trat unter den Reaktionsbedingungen keine Amadori-Umlagerung ein. Dieser Befund bestätigt die von H. S. ISBELL und H. L. FRUSH<sup>9)</sup> aus dem Mechanismus der Umlagerung abgeleitete Forderung, daß mit schwach basischen Aminen eine Umlagerung zu den 1-Amino-1-desoxy-ketosen nicht mehr möglich sein soll.

Die Kondensationsprodukte des 4-Amino-pyrimidins Ia mit Glucose, Benzalglucose, Galaktose oder Ribose zerfallen bei der Nitrosierung fast vollständig unter Freisetzung des Zuckers und des 5-Nitroso-pyrimidins Ib. Eine geringe Menge des Galaktose-haltigen Nitroso-pyrimidins konnte in Substanz gefaßt werden, wenn die Reaktion sofort nach Ausfallen des ersten 5-Nitroso-pyrimidins Ib unterbrochen wurde, indem man die schwach saure Reaktionslösung mit Natronlauge alkalisch machte und dann neutralisierte. Beim Chromatographieren der filtrierten roten Lösung an Ecteola-Cellulose lagerte sich die als rote Zone wandernde Verbindung teilweise in eine blaue, mit anderem Retentionsvolumen wandernde Substanz um. Die Analysen der beiden isolierten Nitrosoverbindungen stützen die Formel IIa ( $R' = NO$  statt H). Bei der Nitrosierung wurde also das Acetal Va gespalten unter Bildung von 1 Mol. 5-Nitroso-pyrimidin Ib und 1 Mol. 5-Nitroso-4-galaktosylamino-pyrimidin IIa ( $R' = NO$  statt H). Nach Reduktion der Nitrosogruppe und anschließender Kondensation mit Diacetyl entstanden zwei blau fluoreszierende Pteridine [ $\lambda_{\text{max}} (\text{H}_2\text{O})$  210, 274, 345–350 m $\mu$ ], offensichtlich vom Typ des Pteringlykosids IV. Eine Reindarstellung dieser Verbindungen war aber wegen der geringen Substanzmengen nicht möglich.

#### SYNTHESЕ VON 2,4-DIAMINO-5-ALKYL-PYRIMIDINEN

Das bei der Kondensation des Amino-pyrimidins Ia mit  $\alpha$ -Glucose entstehende, nicht nitrosierbare Reaktionsprodukt zeigt im IR-Spektrum die für Pyrimidin und Zucker charakteristischen Absorptionen. Die fehlende Nitrosierbarkeit spricht für die 5-Stellung des Zuckers (Id). Diese Alkylierung wird bewiesen durch Vergleich der NMR-Spektren<sup>\*)</sup> des Ribose-*N*-acetals vom Typ Va und des *C*-Alkylierungsproduktes Id: im charakteristischen Bereich, der dem H-Atom in 5 zuzuordnen ist, erscheint nur beim *N*-Acetal ein Signal. Das nicht nitrosierbare Kondensationsprodukt

<sup>\*)</sup> Für die Aufnahme und Diskussion der NMR-Spektren danken wir Herrn Dr. J. CROMAR-TIE, Cambridge.

6) W. PLEIDERER und E. LIEDECK, Liebigs Ann. Chem. **612**, 163 [1958].

7) H. J. SCHRAMM, Diplomarb. Univ. München 1960.

8) F. MICHEEL und A. FROEHN, Chem. Ber. **90**, 1599 [1957].

9) J. org. Chemistry **23**, 1309 [1958].

enthält also in Stellung 5 keinen Wasserstoff. Die Analysenwerte sprechen für die Bruttoformel  $C_{10}H_{16}N_4O_7 \cdot 1.5 H_2O$ , also ein cyclisches 5-Glucosyl-pyrimidin Id, oder  $C_{10}H_{18}N_4O_8 \cdot 0.5 H_2O$ , entsprechend einem offenkettigen 5-Hexahydroxyhexyl-pyrimidin (1-[2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidyl-(5)]-D-glucit). Bei der Perjodatspaltung wurde neben der Polyhydroxyalkylkette auch der Pyrimidinring in unübersichtlicher Reaktion oxydiert, so daß eine Entscheidung zwischen beiden Strukturen auf diesem Wege nicht möglich war. Dagegen konnte in Pyridin/Acetanhydrid das Pentaacetat Ie erhalten werden. Neben der Zuckerkette ist hier die 4-Aminogruppe acetyliert, was die UV-Spektren zeigen (Tab. 1): die Maxima des C-Alkylierungsproduktes Id zeigen beim Ansäuern eine hypsochrome Verschiebung (213 → 205 und 271 → 267 m $\mu$ ), die auf Salzbildung einer Aminogruppe schließen läßt. Diese Verschiebung fehlt beim Pentaacetat fast völlig (226 → 226 und 283 → 280 m $\mu$ ) und zeigt damit die Acetylierung der salzbildenden Aminogruppe. Die Rotverschiebung beim Pentaacetat Ie im Vergleich zu Id deutet auf Acetylierung der 4-Aminogruppe<sup>6,7)</sup>. Der Zuckerrest enthält demnach vier freie Hydroxylgruppen, wie es für die cyclische Struktur Id gefordert wird.

Die Tendenz zur Bildung des 5-Glucosyl-pyrimidins Id ist außerordentlich groß. Erhitzt man das Gemisch von Glucose-N-acetal (Va) und C-Alkylierungsprodukt (Id) einige Zeit in Wasser/Äthanol, so kann man durch quantitative UV-Absorptionsmessungen auf dem Papierchromatogramm eine Zunahme von Id beobachten. Diese Umlagerung erfolgt selbst im festen Zustand beim Aufbewahren des Gemisches bei Raumtemperatur. Führt man die Kondensation von D-Glucose und Amino-pyrimidin Ia mit einer höheren Essigsäurekonzentration durch, so entsteht das C-Alkylierungsprodukt Id in sehr guter Ausbeute. Die der Alkylierung zugrundeliegende Nucleophilie der Stellung 5 im 4-Amino-pyrimidin Ia ist sowohl aus dessen Enamin-Struktur als auch aus einer erhöhten Elektronendichte bei der tautomeren Lactimform verständlich.

Das C-Alkylierungsprodukt Id reiht sich in bekannte Verbindungen ein, bei denen ein Zucker mit einem aromatischen System verknüpft ist, wie bei den Naturstoffen Vitexin aus Puriri-Holz<sup>10)</sup> und Bergenin aus *Bergenia crassifolia*<sup>11)</sup>. Besonders interessant ist seine strukturelle Verwandschaft mit Pseudo-uridin<sup>12,13)</sup>, das den Riboserest an C-5 trägt.

Außer Glucose reagiert auch D-Mannose mit dem Amino-pyrimidin Ia zum C-Alkylierungsprodukt des Typs Id. Da D-Galaktose unter den gleichen Bedingungen keine Spur Reaktionsprodukt vom Typ Id liefert, scheint die Konfiguration der Hydroxylgruppe in Stellung 4 des Zuckermoleküls einen entscheidenden Einfluß zu haben. Die Ketogruppe der D-Fructose ist zu schwach elektrophil und reagiert deshalb nicht mit Ia. Die starke Reaktivität der Stellung 5 zeigt sich in der Kondensation des Pyrimidins Ia mit einer Reihe einfacher Carbonylverbindungen. Formaldehyd reagiert extrem leicht zur 5-Hydroxymethyl-Verbindung If. Die erwartete Mannich-

<sup>10)</sup> W. H. EVANS, A. ROBERTSON, A. McGOOKIN, L. JURD und W. R. N. WILLIAMSON, J. chem. Soc. [London] 1957, 3510.

<sup>11)</sup> E. J. HAY und L. J. HAYNES, J. chem. Soc. [London] 1958, 2231.

<sup>12)</sup> F. W. ALLEN und C. YU, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 32, 393 [1959].

<sup>13)</sup> W. E. COHN, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 32, 569 [1959].

Reaktion mit Piperidin oder Morpholin kam im Gegensatz zum Uracil<sup>14)</sup> nicht zu stande. Umsetzung von Ia mit dem Tetraäthylacetal des Malondialdehyds verlief nicht wie erwartet unter Bildung des Pyrido[2,3-*d*]pyrimidins, sondern unter Verknüpfung zweier Pyrimidine durch doppelte C-Alkylierung (Ig). Benzaldehyd reagiert dagegen mit Ia zu einem nitrosierbaren *N*-Acetal Vb. Auch *p*-Toluolsulfinsäure reagiert nicht mit dem C-Atom 5, sondern gibt in guter Ausbeute das nitrosierbare 4-Tosylamino-pyrimidin Ih. Wie das UV-Spektrum dieser Verbindung zeigt (Tab. 1), vermittelt die Sulfongruppe keine Konjugation zwischen Benzolkern und Pyrimidinrest, da keine bathochrome Verschiebung gegenüber dem freien Amino-pyrimidin Ia eintritt, in Übereinstimmung mit den Befunden von BREDERECK<sup>15)</sup> bei ähnlichen Chromophoren.

#### KONDENSATIONSVERHALTEN ANDERER PYRIMIDINE

Das charakteristische Verhalten der D-Glucose bei der Kondensation mit Ia regt zur Variation der Pyrimidinkomponente an. Solche Versuche können ferner einen Einblick in die Reaktionsfähigkeit des Pyrimidins in Abhängigkeit von dessen Substituenten geben. Tab. 2 vermittelt eine Übersicht über die Ergebnisse der ausgeföhrten Reaktionen.

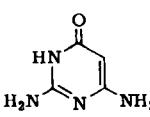
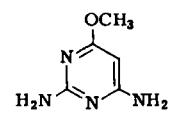
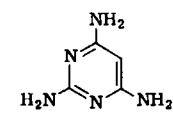
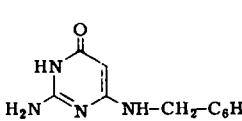
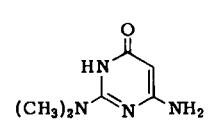
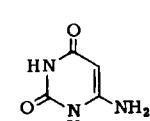
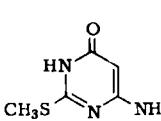
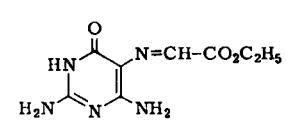
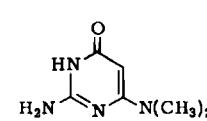
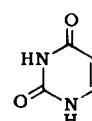
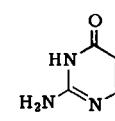
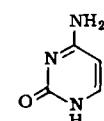
Es ist besonders bemerkenswert, daß bei Reaktion des 4-Benzylamino-pyrimidins VIII mit D-Glucose nur das C-Alkylierungsprodukt entsteht. Mit diesem Versuch hatten wir gehofft, bei einem möglicherweise entstehenden Aminoglucosid unter dem Einfluß der Benzylgruppe eine Amadori-Umlagerung zu erzielen. Das negative Ergebnis mit den aromatischen Pyrimidinen VI und VII ist eine starke Stütze dafür, daß Ia in der Lactamform vorliegt und dadurch erhöhte Reaktionsfähigkeit zeigt. Bei VI und VII ist eine Erhöhung der Elektronendichte am C-Atom 5 und an der 4-Aminogruppe nicht möglich. Ein besonders interessantes Ergebnis liefert die Kondensation des 2-Dimethylamino-pyrimidins IX mit Aldosen. Bereits unter sehr milden Bedingungen erfolgt eine nahezu quantitative Reaktion mit D-Galaktose, bei D-Glucose ist eine Katalyse mit Essigsäure nötig. Das Galaktose-N-acetal Vc verliert bei der Nitrosierung ebenfalls seinen Zuckerrest. Die Reaktion der Zucker und die Labilität nach Einführung der 5-Nitrosogruppe ist ein weiterer Beweis für die Bildung eines *N*-Acetals mit der 4-Aminogruppe von Ia, da die ebenfalls denkbare Reaktion mit der 2-Aminogruppe beim 2-Dimethylamino-pyrimidin IX nicht möglich ist. Umgekehrt ist beim 4-Dimethylamino-pyrimidin XIII die 4-Aminogruppe blockiert. Die bei freier 4-Aminogruppe außerordentlich leicht reagierende D-Galaktose setzt sich mit XIII überhaupt nicht um; die einzige freie Aminogruppe in 2 ist infolge der Guanidinmesomerie für eine Kondensation zu reaktionsträge.

Die C-Alkylierung von Pyrimidinen an C-5 ist besonders interessant bei der weiten Verbreitung des 5-Ribosyl-uracils (Pseudo-uridins). Wir untersuchten deshalb die Reaktionsfähigkeit von Uracil (XIV) mit D-Ribose, vermochten jedoch unter verschiedenen Bedingungen keine Reaktion festzustellen. Wenig besser verliefen Versuche mit Cytosin (XVI) und Isocytosin (XV); in beiden Fällen entsteht mit D-Ribose

<sup>14)</sup> J. H. BURKHALTER, R. J. SEIWALD und H. C. SCARBOROUGH, J. Amer. chem. Soc. **82**, 991 [1960].

<sup>15)</sup> H. BREDERECK, E. BÄDER und G. HÖSCHELE, Chem. Ber. **87**, 784 [1954].

Tab. 2. Verhalten verschiedener Pyrimidinderivate bei Kondensation mit D-Glucose.  
C-5: Reaktion am C-Atom 5, N-4: Reaktion an der 4-Aminogruppe. + schlechte, ++ gute, +++ sehr gute, - keine Reaktion.

	Ia		VI		VII
C-5:	+++		-		-
N-4:	+++		-		-
	VIII		IX		X
C-5:	++		?		+
N-4:	-		+++		-
	XI		XII		XIII
C-5:	?		-		-
N-4:	-				-
	XIV		XV		XVI
C-5:	-		?		?

in Gegenwart von Essigsäure eine neue UV-absorbierende Verbindung, deren Menge aber für eine Isolierung zu gering war. Einen Anhaltspunkt dafür, daß es sich dabei um C-Alkylierungsprodukte handelt, bietet folgender Versuch: Das Kondensationsprodukt aus Cytosin und Ribose wurde zur Desaminierung mit Nitrit behandelt, wobei aus dem 5-Ribosyl-cytosin wenigstens zum Teil Pseudo-uridin entstehen müßte. Nach präparativer Papierchromatographie konnte eine Verbindung extrahiert werden, welche die für Pseudo-uridin charakteristische Rotverschiebung der UV-Absorption beim Übergang vom Neutralen ins Alkalische zeigt:  $\lambda_{\max}(\text{H}_2\text{O})$  270 m $\mu$ ,  $\lambda_{\max}(\text{NaOH})$  283 m $\mu$ ,  $\epsilon_{270}/\epsilon_{283} = 0.94$ .

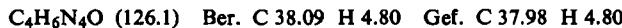
Herrn Professor A. BUTENANDT danken wir herzlich für die vielseitige Förderung dieser Arbeit. Fräulein G. SCHILD leistete bei der Aufnahme der UV-Spektren, Fräulein I. KÖHLER bei der Aufnahme der IR-Spektren, Fräulein S. SCHÄR bei der Synthese einiger Pyrimidine wertvolle Hilfe.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Mikroanalysen wurden von A. BERNHARDT, Mülheim/Ruhr, und Dr. A. SCHOELLER, Kronach/Ofr., ausgeführt. Die UV-Spektren wurden mit dem Spektralphotometer DK 2 (Beckman), die IR-Spektren mit dem Spektralphotometer M 21 (Perkin Elmer) aufgenommen. Die quantitative Auswertung der Papierchromatogramme erfolgte mit dem Chromatogrammzusatzgerät zum Spektralphotometer PMQ II (Zeiss). Die Papierchromatographie (Laufmittel 4-proz. wäsr. Natriumcitratlösung) wurde aufsteigend (Schleicher & Schüll Nr. 2043 b) durchgeführt. Die Pyrimidine lassen sich auf dem getrockneten Chromatogramm über einer UV-Lampe (UG 5-Filter, Hg-Linie bei 253.4 m $\mu$ ) durch ihre Fluoreszenzlösung nachweisen.

**2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (Ia):** Nach Abänderung der Vorschrift von J. A. VAN ALLAN<sup>16)</sup> werden zu 92 g *Natrium* in 1 l absol. *Methanol* vorsichtig 194 g (2.04 Mol) *Guanidinhydrochlorid* gegeben, darauf langsam 226 g (213 ccm) *Cyanessigester* (2.0 Mol). Man kocht 3 Stdn. unter Rückfluß und destilliert das *Methanol* i. Vak. ab. Der Rückstand wird in 500 ccm heißem Wasser gelöst und mit 134 ccm Eisessig angesäuert. Beim Abkühlen scheiden sich 206 g (81%) gelbliche Nadeln ab. Schmp. 282–283°.

Aus der Mutterlauge lassen sich durch Zusatz von überschüss. *NaNO*<sub>2</sub> noch 40 g *Ib* gewinnen, was weiteren 32 g (12%) *Ia* entspricht.



**Kondensation von Ia mit D-Glucose:** 34.5 g (0.27 Mol) *Ia*, 34.5 g (0.19 Mol) *D-Glucose* und 1 g *NH*<sub>4</sub>*Cl* werden in 250 ccm Äthanol und 200 ccm Wasser heiß gelöst. Es wird 5 Stdn. gekocht, auf etwa 250 ccm eingeengt, die 3fache Menge Aceton zugesetzt, der Niederschlag am folgenden Tag abgetrennt und mit *Methanol* verrieben, bis er fest wird. Nach einmaligem Umfällen aus Wasser mit Aceton Ausb. 30 g (51%). Das Produkt läßt sich durch häufiges Umfällen so weit reinigen, daß es chromatographisch einheitlich ist. Zers. ab 180°.



Das Rohprodukt ergibt bei der Papierchromatographie (Laufmittel 4-proz. Natriumcitratlösung) zwei Flecken (*R*<sub>F</sub> 0.42 und 0.62). Badet man die Chromatogramme in 1-proz. *NaNO*<sub>2</sub>-Lösung, so färbt sich die Substanz mit *R*<sub>F</sub> 0.42 rot, die andere bleibt farblos. *Ia* (*R*<sub>F</sub> 0.36) nimmt eine himbeerrote Farbe an. Es lassen sich so noch 10 γ *Ia* sicher nachweisen.

**Kondensationsprodukt aus Ia mit D-Galaktose (Va):** 2.5 g *Ia* (20 mMol) werden mit 1.8 g *D-Galaktose* in 13 ccm Äthanol und 7 ccm Wasser unter Zusatz von 0.2 ccm Eisessig gekocht. Nach 6 Stdn. läßt man abkühlen und verstärkt den Niederschlag durch Zusatz von etwa 50 ccm Aceton. Gesamtausb. 3.8 g (92%, bez. auf *Ia*). Im Papierchromatogramm zeigen sich zwei nitrosierbare Flecken (*R*<sub>F</sub> 0.41 und 0.50). Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Wasser erhält man *Va* in farblosen Kristallen (*R*<sub>F</sub> 0.41), Zers.-P. 228–230°.



**Hydrolyse des D-Galaktose-N-acetals Va:** 100 mg *Va* werden in 10 ccm 0.1 n *H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>* auf dem Wasserbad erhitzt. Nach 30 Min. läßt man abkühlen und neutralisiert die Lösung. Im Papierchromatogramm zeigt sich *Va* (*R*<sub>F</sub> 0.42) und *Ia* (*R*<sub>F</sub> 0.36). Nach Besprühen mit 1-proz. Triphenyl-tetrazoliumchloridlösung in 0.5 n *NaOH* und kurzem Trocknen erscheint außerdem ein roter Fleck auf gleicher Höhe wie als Vergleichsubstanz mitgelaufene Galaktose.

**Kondensation von Ia mit D-Ribose:** 7.8 g *D-Ribose* (50 mMol) werden mit 10.3 g *Ia* (80 mMol) und 0.5 g *NH*<sub>4</sub>*Cl* in 150 ccm Wasser erhitzt. Nach 3½ Stdn. wird auf die Hälfte eingeengt und mit Aceton gefällt. Nach Behandeln mit *Methanol* wiegt der Niederschlag getrocknet

<sup>16)</sup> Org. Syntheses 32, 45 [1952].

10.7 g (80% d. Th.). Nach häufigem Umfällen aus wäsr. Lösung mit Aceton kann man aus Wasser umkristallisieren.  $R_F$  0.46, Zers.-P. 180°.



*Kondensation von Ia mit 4,6-Benzal-D-glucose:* 2.5 g Ia (20 mMol) und 5.4 g 4,6-Benzal-glucose<sup>17)</sup> (20 mMol) werden in 50 ccm Äthanol auf dem Wasserbad erhitzt. Die Substanz löst sich fast vollständig. Nach 20 Min. bildet sich ein Niederschlag, der nach weiteren 15 Min. Kochen abgesaugt wird. Ausb. 2.3 g (46%). Zers.-P. 200–240°.



*Nitrosierungen:* Nitrosiert man die Kondensationsprodukte (mit Ausnahme des C-Alkylierungsproduktes) in Wasser mit *Natriumnitrit* und Essigsäure, so erhält man einen himbeerroten Niederschlag, der im IR-Spektrum keine CO-Banden zwischen 9 und 10  $\mu$  zeigt. Das Spektrum ist identisch mit dem von Ib. Die Mutterlauge ist schwach rosa gefärbt. Auch bei Nitrosierung mit Amylnitrit oder in Acetatpuffer bei niedriger Temperatur erhält man kein Produkt, das nach dem IR-Spektrum noch Kohlenhydratbanden enthält.

Aus der Mutterlauge der Nitrosierung lassen sich geringe Mengen 5-Nitroso-3-amino-4-galaktosylamino-6-hydroxy-pyrimidin (IIa, R = NO statt H) folgendermaßen isolieren: Aus 54 g rohem Kondensationsprodukt von Ia mit Galaktose wurde die Nitrosoverbindung hergestellt, indem man kleine Portionen (etwa 10 g) in wäsr. Lösung mit einem Überschuß von NaNO<sub>2</sub> und einigen Tropfen Eisessig versetzte. Sobald sich eine kräftig rote Farbe entwickelt hatte, wurde in einem Guß überschüss. NaOH zugegeben, wieder neutralisiert, von ausgefallenem Nitrosopyrimidin Ib abgesaugt und die Lösung i. Vak. eingeengt. Mehrfache Chromatographie an Cellulosepulver und Ecteola-Cellulose sowie mehrfaches Umfällen aus Wasser mit Aceton lieferte eine schwachrote und eine blaue Substanz. Beide besitzen gleichen  $R_F$ -Wert.



Eine aus 20 g Va hergestellte Nitrosoverbindung wurde in wäsr. Lösung mit *Natrium-dithionit* versetzt; die rote Farbe verschwand rasch. Nach Zugabe von *Diacetyl* entstanden zwei Pteridine ( $R_F$  0.34 und 0.60). Auf einer Celite-Magnesol-Säule wurde das mit Wasser rascher wandernde Pteridin abgetrennt und isoliert. Das UV-Spektrum zeigt im Wasser Maxima bei 210, 274 und 345–350  $\mu\mu$ .

*5-D-Glucosyl-pyrimidin Id:* 180 g D-Glucose (1 Mol) und 123 g Ia (0.98 Mol) werden in 500 ccm Wasser unter Zusatz von 20 ccm Eisessig als Katalysator rückfließend gekocht. Nach 5 Stdn. filtriert man von wenig Niederschlag heiß ab und läßt das Reaktionsprodukt im Eisschrank auskristallisieren. Aus 200 ccm Wasser kommen 194 g (68%, bez. auf Ia).  $R_F$  0.62, Zers.-P. 190–200°.



*Umlagerung des rohen Kondensationsproduktes von Ia mit D-Glucose zu 5-D-Glucosyl-pyrimidin Id:* 1 g des Rohproduktes wurde auf dem Wasserbad in 20 ccm Äthanol und 10 ccm Wasser erhitzt. In gewissen Zeitabständen wurde eine Probe papierchromatographiert und das entwickelte Chromatogramm im Chromatogrammzusatzgerät ausgewertet durch Vergleich der für die jeweiligen  $R_F$ -Werte gemessenen Absorptionsen:

Erhitzungszeit (Stdn.)	0	1	2	4
Id (%)	31.2	32.4	35.2	45.1

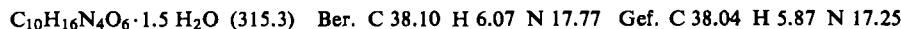
<sup>17)</sup> L. ZERVAS, Ber. dtsch. chem. Ges. 64, 2289 [1931].

Im trockenen Kondensationsprodukt lässt sich bereits nach zweitägigem Aufbewahren bei Raumtemperatur eine Erhöhung von 31.2 auf 36.6% *Id* feststellen.

*Acetylierung von Id:* 5 g *Id* werden in 20 ccm Pyridin und 50 ccm *Acetanhydrid* suspendiert. Auch nach kurzem Erwärmen löste sich nur ein Teil der Substanz. Das Ungelöste wurde abgetrennt, die Lösung im Eisschrank aufbewahrt und am nächsten Tag auf 1 l Eiswasser gegossen, wobei sich kein Niederschlag bildete. Es wurde i. Vak. eingeengt und der Rückstand aus n-Butanol, n-Propanol und 2 mal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 157–160° (Zers.). Die Analysenwerte sind auf Ie berechnet.



*5-D-Mannosyl-pyrimidin, entspr. Id:* 3.0 g *Ia* (23.8 mMol) und 4.5 g *D-Mannose* (25.0 mMol) in 25 ccm Wasser werden mit 1 ccm Eisessig versetzt und 2.5 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen bildet sich ein orangefarbener Niederschlag, der durch Äthanolzusatz verstärkt wird. Ausb. 3.7 g (53%). Aus Wasser erhält man farblose Kristalle vom Zers.-P. 178°. Enthält die Substanz noch Kristallwasser, so tritt bei 107–110° ein Schmp. auf; der Zers.-P. liegt dann bei 185–200°. *R<sub>F</sub>* 0.60.

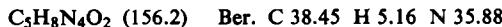


Erhitzt man die Komponenten in Äthanol/Wasser ohne Essigsäurezusatz, so erhält man in 93-proz. Rohausb. ein Gemisch, das aus mehreren nitrosierbaren Pyrimidinen besteht. Zers.-P. > 180°.

*Kondensation von Ia mit D-Fructose:* 12.6 g *Ia* werden mit 18.0 g *D-Fructose* in 100 ccm Äthanol unter Zusatz einer Spatelspitze NH<sub>4</sub>Cl erhitzt. Nach 3 Stdn. zeigt sich im Papierchromatogramm außer *Ia* kein absorbierender Fleck, ebensowenig bei Verwendung von Essigsäure.

#### 5-Hydroxymethyl-pyrimidin If

a) Man kocht 12.6 g *Ia* und 3.3 g *Paraformaldehyd* mit 8.5 g Piperidin (oder 8.7 g Morpholin) in 500 ccm 95-proz. Äthanol. Nach 8 Stdn. fallen 3.6 (bzw. 5.3) g eines farblosen Niederschlags aus. Zers.-P. > 290°.

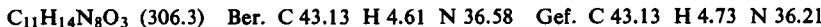


Bei Piperidin-Zusatz: Gef. C 38.04 H 4.93

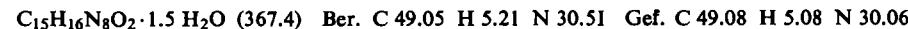
Bei Morpholin-Zusatz: Gef. N 35.65

b) 2.5 g *Ia* werden in 200 ccm Wasser warm gelöst und mit 2 ccm 40-proz. *Formalin* in 10 ccm Wasser unter Röhren tropfenweise versetzt. Nach einigen Sek. fallen farblose Nadeln aus. Ausb. 1.4 g (45%) *If*.

*Kondensation von Ia mit Malondialdehyd-tetraäthylacetal zu Ig:* 2.5 g *Ia* und 5 ccm des Acetals werden in 40 ccm Äthanol/Wasser (1:1) erhitzt. Nach etwa 1 Stde. zeigen sich glänzende Schuppen, die nach 5½ Stdn. abgesaugt werden. Ausb. 1.9 g (62.5%). Zers.-P. > 330°. Zur Analyse wird die Probe mehrmals aus Wasser umkristallisiert.



*Kondensation von Ia mit Benzaldehyd (Vb):* 2.5 g *Ia* in 100 ccm Wasser werden zusammen mit 2.0 g *Benzaldehyd* in 100 ccm Äthanol kurz erwärmt. Beim Einengen auf etwa ¼ des Vol. wird ein Niederschlag erhalten. *R<sub>F</sub>* 0.25; Zers.-P. 264–266°.



*Kondensation von Ia mit p-Toluolsulfonsäure zu Ih:* 4.0 g *Ia* (31.7 mMol) und 19.0 g *p-Toluolsulfonsäure* (110 mMol) werden in 300 ccm Methanol 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Beim Einengen fallen farblose Nadeln aus. Ausb. 5.8 g (65%), aus Methanol Schmp. 263°.



*Kondensation von 2,4-Diamino-6-methoxy-pyrimidin (VI) mit d-Glucose:* 1.0 g VI<sup>18)</sup> und 1.3 g Glucose werden in 20 ccm Äthanol 8 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Im Papierchromatogramm ist nur VI erkennbar. Verwendet man 20 ccm Wasser und 0.2 ccm Eisessig, so bilden sich bei 13 stdg. Kochen Spuren einer weiteren nitrosierbaren Verbindung ( $R_F$  0.75), deren Konzentration für eine Isolierung zu gering ist.

*Kondensation von 2,4,6-Triamino-pyrimidin (VII) mit d-Glucose:* 9 g Glucose werden mit 6 g VII<sup>19)</sup> in 150 ccm Äthanol und 20 ccm Wasser 20 Stdn. gekocht. Es tritt keine Reaktion ein. Mit 2-proz. Essigsäure und nach 8 stdg. Erhitzen erscheinen papierchromatographisch neben VII ( $R_F$  0.28) weitere schwache Flecken, die nitrosierbar sind. Für eine Isolierung waren die Mengen zu gering.

*2-Amino-4,6-dihydroxy-pyrimidin:* In einer Verbesserung der Synthese von W. TRAUBE<sup>19)</sup> werden in einem 2-l-Dreihalskolben zu 46 g Natrium (2.0 Mol) in 1.2 l Methanol noch warm unter Röhren 97 g Guantdin-hydrochlorid (1.0 Mol) gegeben, 15 Min. unter Rückfluß gekocht, unter weiterem Röhren 132 g (115 ccm) Malonsäure-dimethylester (1.0 Mol) zugetropft (Vorsicht, Überschäumen bei zu rascher Zugabe) und noch 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Der Niederschlag wird abgesaugt, in 1.5 l Wasser gelöst und nach vorsichtigem Neutralisieren mit etwa 65 ccm Eisessig ein farbloser Niederschlag ausgefällt, der abgetrennt und mit Methanol gewaschen wird. Ausb. 125 g (98%).

*2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin (VIII):* 5.4 g 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin<sup>20)</sup> (37.0 mMol) werden mit 10.0 g Benzylamin (93.5 mMol) 3 Stdn. bei 90–100° und 1 Stde. bei 130° im Bombenrohr erhitzt. Es wird mit 200 ccm warmem Äthanol gelöst und filtriert. Beim Einengen fällt ein Niederschlag aus, der nach mehrmaligem Umkristallieren aus viel Wasser und aus Äthanol Schmp. 217° zeigt. Ausb. 6.1 g (76%).

$C_{11}H_{12}N_4O$  (216.2) Ber. C 61.09 H 5.59 N 25.91 Gef. C 60.94 H 5.60 N 25.92

*5-Nitroso-2-amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin:* Versetzt man eine heiße wäßr. Lösung von VIII mit überschüss. Natriumnitrit und säuert mit 2n Essigsäure an, so fällt das rosarote krist. 5-Nitroso-Derivat von VIII aus. Zers.-P. 265–270°.

$C_{11}H_{11}N_5O_2$  (245.2) Ber. C 53.87 H 4.52 N 28.56 Gef. C 54.16 H 4.65 N 28.60

*2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-5-d-glucosyl-pyrimidin:* 1 g VIII und 1 g Glucose werden in 10 ccm Wasser und 0.1 ccm Eisessig 7 Stdn. gekocht. Man verdünnt mit Wasser auf 40 ccm, behandelt mit Aktivkohle und kristallisiert den Niederschlag mehrmals aus wäßr. Äthanol um. Farblose Nadeln, Schmp. 195°.

$C_{17}H_{22}N_4O_6 \cdot 1.5 H_2O$  (387.4) Ber. C 52.71 H 5.99 N 14.46 Gef. C 52.78 H 6.02 N 14.42

*Kondensation von IX mit d-Glucose:* 3.1 g IX<sup>21)</sup> und 3.6 g d-Glucose werden mit 1 ccm Eisessig in 20 ccm Wasser erhitzt. Nach 1 Stde. wird filtriert, eingeengt und der Niederschlag (Vc) aus Wasser umkristallisiert. Zers.-P. 226–227°.  $R_F$  0.65.

$C_{18}H_{30}N_8O_7 \cdot 1.5 H_2O$  (497.5) Ber. C 43.45 H 6.69 N 22.52 Gef. C 43.45 H 6.58 N 22.65

In geringer Menge entsteht daneben ein nicht nitrosierbares Produkt vom  $R_F$  0.81. Ohne Essigsäurezusatz erhält man nach 2.5 Stdn. das Ausgangsmaterial unverändert zurück.

*Kondensation von IX mit d-Galaktose:* 4.7 g IX (30 mMol) und 6 g Galaktose (30 mMol) werden in 40 ccm Äthanol und 14 ccm Wasser suspendiert. Nach Zugabe einer Spur  $NH_4Cl$

<sup>18)</sup> B. ROTH, J. H. SMITH JR. und M. E. HULTQUIST, J. Amer. chem. Soc. 73, 2869 [1951].

<sup>19)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. 26, 2553 [1893].

<sup>20)</sup> H. S. FORREST, R. HULL, H. J. BODDA und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1951, 3.

<sup>21)</sup> B. ROTH, J. H. SMITH JR. und M. E. HULTQUIST, J. Amer. chem. Soc. 73, 2864 [1951].

wird unter Rückfluß gekocht. Nach vollständiger Lösung des Pyrimidins fällt ein Niederschlag aus (*Vc*), der nach 2 Stdn. abgetrennt wird. Ausb. 10 g (96%). Aus 17 ccm währ. Äthanol (1:1) Zers.-P. bei 223°.

$C_{18}H_{30}N_8O_7 \cdot 4 H_2O$  (542.6) Ber. C 39.84 H 7.07 N 20.66 Gef. C 39.97 H 6.90 N 20.20

*Kondensation von 4-Amino-uracil (X) mit D-Glucose:* 7 g *X*<sup>21</sup> werden mit 10 g *D-Glucose* in 300 ccm Wasser und 100 ccm Äthanol 7 Stdn. erhitzt. Im Papierchromatogramm zeigt sich neben *X* (*R<sub>F</sub>* 0.59) ein zweiter Fleck mit *R<sub>F</sub>* 0.77, der nicht nitrosierbar ist. Für eine Isolierung ist die entstandene Menge zu gering. Etwas höhere Ausbb. erhält man bei Verwendung von Essigsäure als Katalysator.

*Kondensation von XI mit D-Glucose:* 5 g des *Pyrimidins XI*<sup>22</sup> wurden mit 7 g *Glucose* in 50 ccm Wasser und 1 ccm Essigsäure erhitzt. Im Papierchromatogramm zeigte sich ein zusätzlicher, nicht nitrosierbarer Fleck bei *R<sub>F</sub>* 0.67. Die Substanz ließ sich nicht isolieren und tritt auch ohne Essigsäurezusatz in geringer Menge auf.

*Kondensation von XII mit D-Glucose:* 2 g *XII*<sup>23</sup> wurden mit 4 g *Glucose* 2 Stdn. in 100 ccm Äthanol gekocht. Im Papierchromatogramm lässt sich nur Ausgangsmaterial erkennen.

*2-Amino-4-dimethylamino-6-hydroxy-pyrimidin (XIII):* 5.0 g *4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin*<sup>20</sup> und 30 ccm 33-proz. währ. *Dimethylamin-Lösung* werden 3 Stdn. im Bombenrohr auf 135–140° erhitzt und nach Abkühlen die gelben Kristalle isoliert. Ausb. 2.5 g (48%). Aus Methanol farblose Täfelchen. Zers.-P. > 350°.

$C_6H_{10}N_4O$  (154.2) Ber. C 46.74 H 6.54 N 36.34 Gef. C 47.08 H 6.62 N 36.06, 36.42

*Kondensation von XIII mit D-Galaktose:* Äquimol. Mengen *XIII* und *Galaktose* wurden in währ. Äthanol mit einer Spur NH<sub>4</sub>Cl 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen wird das Ausgangsmaterial quantitativ zurückgewonnen.

*Kondensation von Uracil (XIV) mit D-Ribose bzw. D-Glucose:* Erhitzt man *XIV* 10 Stdn. in 10- oder 30-proz. Essigsäure mit *D-Ribose* bzw. *D-Glucose*, so erfolgt keine Kondensation.

*Kondensation von Isocytosin (XV) mit D-Ribose:* 220 mg *XV* und 300 mg *D-Ribose* werden in 2 ccm 50-proz. Essigsäure 2 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Die Lösung färbt sich dabei rot. Im Papierchromatogramm erkennt man außer *XV* (*R<sub>F</sub>* 0.69) noch eine zweite Substanz mit *R<sub>F</sub>* 0.78–0.81, für deren Isolierung die Menge zu gering ist.

*Kondensation von Cytosin (XVI) mit D-Ribose:* 800 mg *XVI* und 1.2 g *D-Ribose* werden in 6 ccm Wasser und 0.3 ccm Eisessig 5 Stdn. erhitzt. Papierchromatographisch ergeben sich 2 Flecken, *R<sub>F</sub>* 0.68 (*XVI*) und 0.75. Erwärmt man die Lösung mit 0.5 g NaNO<sub>2</sub> und wenig 2*n* HCl, so entsteht eine Verbindung mit höherem *R<sub>F</sub>-Wert* (0.81) und Uracil (*R<sub>F</sub>* 0.67). Die Substanz mit dem höheren *R<sub>F</sub>-Wert* kann aus dem Papierchromatogramm eluiert werden und besitzt ein UV-Maximum bei 270 m $\mu$  (Wasser) bzw. 283 m $\mu$  (NaOH).

<sup>22)</sup> B. R. BAKER, J. P. JOSEPH und R. E. SCHAUER, *J. org. Chemistry* **19**, 631 [1954].

<sup>23)</sup> W. PFLEIDERER, *Chem. Ber.* **90**, 2602 [1957].