

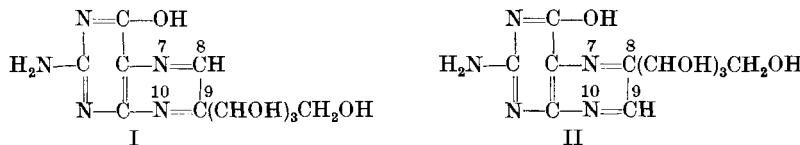
108. Über die Konstitution einiger neuer Pteridine.

Eine weitere Folsäuresynthese

von P. Karrer und R. Schwyzer.

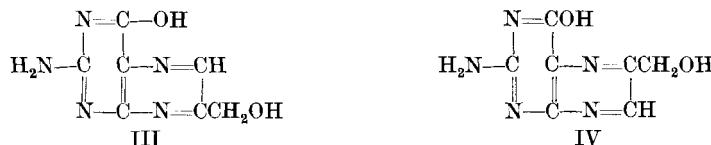
(16. III. 48.)

2,4,5-Triamino-6-oxyppyrimidin lässt sich, wie wir kurzlich¹⁾ beschrieben haben, mit Aldosen und Ketosen zu Pteridin-derivaten kondensieren. Die Umsetzungsprodukte mit Aldosen haben wir, mit einigem Vorbehalt, als 9-Polyoxyalkylpteridine (z. B. 2-Amino-6-oxy-9-*d*-erythro-trioxypropyl-pteridin, Formel I) angesprochen, während in den Umsetzungsprodukten mit Ketosen die entsprechenden 8-Polyoxyalkylpteridine (z. B. Formel II) vorliegen würden.



In einer später erschienenen Mitteilung vertreten nun *H. G. Petering* und *D. J. Weisblat*²⁾ die Auffassung, dass unter den von uns benutzten Kondensationsbedingungen aus Triamino-oxyppyrimidin und Aldosen Pteridine entstehen, die der Formel II entsprechen; ihre Ansicht deckt sich somit nicht mit der unserigen.

Zu dieser Frage möchten wir folgende Beobachtungen beitragen. Wir hatten in der l. c. Abhandlung auch die Pteridine beschrieben, welche man aus Glycerinaldehyd bzw. Dioxyaceton und 2,4,5-Triamino-6-oxyppyrimidin erhält. Dem ersten, als Kondensationsprodukt mit der Aldose Glycerinaldehyd, wurde (unter Vorbehalt) die Formel III, letzterem (Kondensat mit Dioxyaceton) Formel IV zugeteilt

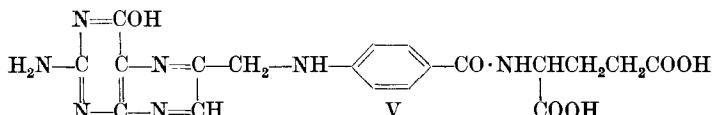


Die beiden Verbindungen lassen sich mit p-Aminobenzoylglutaminsäure durch Erhitzen in Ameisensäure kondensieren. Die Reaktionen verlaufen nicht einheitlich, da die Ameisensäure auf die p-Aminobenzoylglutaminsäure z. T. auch spaltend, z. T. formylierend

¹⁾ P. Karrer, R. Schwyzer, B. Erden und A. Siegwart, Helv. 30, 1031 (1947).

²⁾ H. G. Petering und D. J. Weisblat, Am. Soc. 69, 2566 (1947).

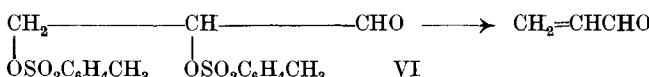
einwirkt. Für unsere Problemstellung ist es jedoch von Bedeutung, dass bei dieser Kondensation nur das Oxymethyl-pteridin aus Dioxy-aceton Pteroylglutaminsäure (Folsäure) liefert, während das Kondensationsprodukt aus Glycerinaldehyd keine Folsäure entstehen lässt. Wenn daher Pteroylglutaminsäure die ihr zugeschriebene Konstitutionsformel V besitzt, müssen in den aus Aldosen und Triamino-oxypyrimidin entstehenden Verbindungen 9-Oxyalkyl-pteridine (Formeln I, III) vorliegen, während die Ketosen-derivate die 8-Oxyalkyl-pteridine enthalten (Formel II, IV).



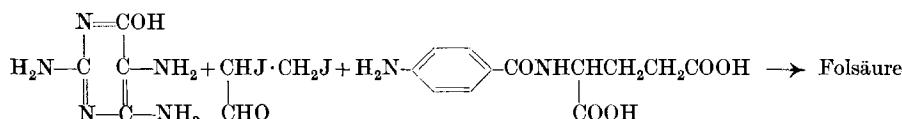
Unter der Voraussetzung, dass die heute übliche Folsäureformel richtig ist, bleibt unsere früher ausgesprochene Auffassung über die Konstitution der isomeren Oxyalkyl-pteridine zu Recht bestehen.

Eine neue Folsäuresynthese liess sich auf folgendem Weg entwickeln. Wenn man 2,4,5-Triamino-6-oxyprymidin, Glycerinaldehyd-di-toluolsulfonsäureester (VI) und p-Aminobenzoylglutaminsäure in Lösung zusammenbringt, lässt sich keine Folsäurebildung beobachten. Fügt man dieser Lösung aber eine ausreichende Menge eines Jodids, z. B. Natrium- oder Kaliumjodid hinzu, so bildet sich die gewünschte Verbindung schon bei 0–5° C in Ausbeuten bis zu 10%.

Die nähere Untersuchung dieser Reaktion hat gezeigt, dass Glycerinaldehyd-di-toluolsulfosäureester (VI) durch Kaliumjodid in ziemlich glatter Reaktion in Acrolein übergeführt wird.

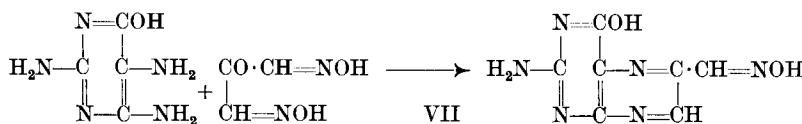


Es ist möglich, dass sich dieser Umsatz über ein instabiles Jodid, vielleicht den 2,3-Dijodpropionaldehyd oder einen Jod-oxy-propionaldehyd-toluolsulfonsäureester abspielt und dieser hierauf im status nascens mit dem Triamino-oxypyrimidin und der p-Aminobenzoylglutaminsäure in Umsatz tritt.

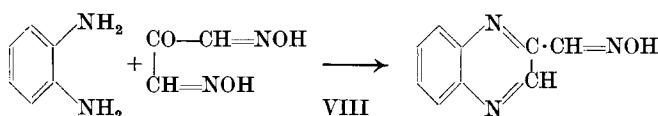


Von weiteren neuen Synthesen auf dem Pteringebiet erwähnen wir die Kondensation von 2,4,5-Triamino-6-oxypyrimidin mit Di-isobutyroacetone, die in recht glatter Reaktion zum 2-Amino-6-oxy-8(oder 9)-oximinomethylpteridin (VII) führt; die Stellung der Ox-

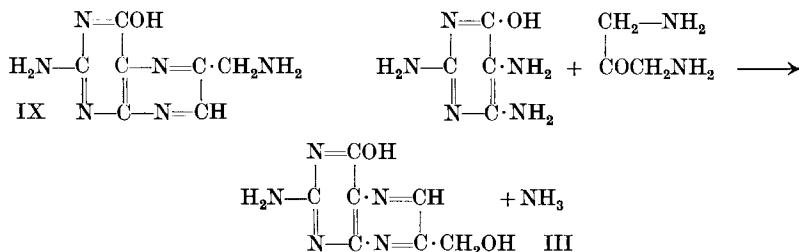
iminomethylgruppe ist nicht bewiesen, die Stellung 8 scheint uns aber aus Analogiegründen wahrscheinlicher als 9.



In ganz entsprechender Art kann man aus o-Phenyldiamin und Di-isonorosoaceton das 2-(Oximinomethyl)-chinoxalin (VIII) erhalten, welches von *W. Borsche* und *W. Doeller*¹⁾ früher auf anderem Weg dargestellt worden war.



Endlich haben wir noch den Umsatz von Diaminoaceton mit 2,4,5-Triamino-6-oxypyrimidin untersucht. Auch in diesem Fall bildet sich leicht ein krystallisierendes Pteridinderivat. Nach dem Ergebnis der Analyse ist es aber nicht die erwartete Amino-methylpteridinverbindung IX, sondern ein Oxymethylpteridin. Da es nicht gelang, die Verbindung mittels p-Aminobenzoylglutaminsäure und Ameisensäure in Folsäure überzuführen, liegt vermutlich das 9-Oxy-methyllderivat (III) vor, welches sich im Sinn nachstehender Gleichung gebildet haben müsste:



Ein Versuch, o-Phenyldiamin mit Diaminoaceton in gleicher Art in ein Chinoxalinderivat überzuführen, ergab bisher kein positives Resultat; das Kondensationsvermögen des o-Phenyldiamins scheint für diesen Umsatz nicht ausreichend zu sein.

Dagegen können Aminozucker, z. B. Glucosamin, mit Triamino-oxypyrimidin unter Bildung von Pteridinderivaten reagieren. Die Reaktion bietet indessen gegenüber jenen mit Aldosen keine Vorteile; die Ausbeute an Pteridin ist im Gegenteil kleiner und die Reaktionsprodukte sind weniger rein.

Der Chemischen Fabrik *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.*, Basel, danken wir für die Ausführung der Folsäurebestimmungen bestens.

¹⁾ A. 537, 39 (1939).

Experimenteller Teil.

Pteroylglutaminsäure aus 2-Amino-6-oxy-8-oxymethyl-pteridin und Aminobenzoyl-glutaminsäure.

2,1 g Aminobenzoyl-L(+)-glutaminsäure und 1,4 g des Kondensationsproduktes aus Dioxyaceton und 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin trockneten wir, innig verrieben, bei 100° im Hochvakuum. Darauf erhitzten wir die Lösung des Gemisches in 10 cm³ Ameisensäure während zwei Stunden auf 100—120°. Beim Verdünnen der erkalteten roten Masse mit Wasser schied sich ein voluminöser Niederschlag ab, der sich beim Abstumpfen der Lösung auf pH 3—4 noch vermehrte. Nach einem Stehen bei 0° wurde der Niederschlag nach dem Abtrennen von der Lösung mit verdünnter Soda ausgezogen und das Sodalösliche durch Ansäuern auf pH 3 wieder ausgefällt. Diesen Niederschlag lösten wir in 80 cm³ warmem, sehr verdunntem Ammoniak, filtrierten und stellten die Lösung auf pH 3 ein. Im Eisschrank schied sich eine hellgelbe, krystalline Substanz aus, die in Hydrogencarbonatlösung löslich ist und 15% Folsäure (biologisch bestimmt) enthielt.

Folsäure aus 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin, Glycerinaldehyd-di-toluolsulfosäureester und Aminobenzoyl-glutaminsäure.

80 mg 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin, 200 mg Di-toluolsulfonsäureester des Glycerinaldehyds, 140 mg Aminobenzoyl-L(+)-glutaminsäure und 4 g Natriumacetat lösten wir in einem Gemisch von 25 cm³ Wasser und 75 cm³ Methanol in Wasserstoffatmosphäre und gaben bei 0—5° C zu der klaren Lösung auf einmal eine solche von 250 mg (3 Äquiv.) KJ. Nachdem die Lösung 55 h bei 0—5° gestanden hatte, filtrierten wir sie von einer Spur eines roten Niederschlages ab und verdampften sie bei 30° im Vakuum. Den Rückstand zog man mit kaltem Aceton aus und löste ihn dann in möglichst wenig Wasser. Bei der Zugabe von 2-n. HCl bis pH 3,5 fiel die rohe Folsäure aus. 50 mg gelbe Substanz mit 6% Folsäuregehalt (biologisch bestimmt).

2-Amino-6-oxy-8(oder 9)-oximinomethyl-pteridin.

2,55 g 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin-sulfat verrieben wir innig mit 1,15 g Diisotonitroso-aceton und 1,7 g wasserfreiem Natriumacetat. Diese Mischung trug man in kleinen Anteilen in 40 cm³ Wasser und 2 cm³ Eisessig, durch die Stickstoff geleitet wurde, ein. Die Reaktion vollzogt sich schon bei Zimmertemperatur, und das Pterin scheidet sich als roter Niederschlag aus. (Beim Erwärmen auf höhere Temperaturen wird das Diisotonitroso-aceton unter Blausaureentwicklung zerstört.)

Nachdem alles farblose Sulfat verschwunden war, erwarmten wir kurze Zeit auf 30° und trennten das Pterin aus der warmen Lösung ab. Zur Reinigung der Substanz stellte man ihr Natriumsalz her, das sich beim Anreiben und schwachen Erwärmen mit 2-n. Natronlauge in orangegelben Krystallen ausscheidet. In Wasser ist es leicht löslich. Durch Behandeln mit Essigsäure stellten wir daraus das freie Pterin her und brachten es durch Zusatz von Ammoniak in 2 Liter heissem Wasser in Lösung. Nach dem Filtrieren sauerete man mit Salzsäure an, bis der entstandene Niederschlag sich zum grossten Teil wieder gelöst hatte, filtrierte nach Tierkohlezusatz und neutralisierte mit Ammoniak auf pH 5. Beim Abkühlen schied sich die Substanz in Form gelber, vielkantiger Plattchen ab. Je nach der Krystallgrösse, die vom Volumen der Lösung und von der Abkühlungsgeschwindigkeit abhängt, erscheint die Substanz mehr rot oder mehr gelb. Sie fluoresziert in Lösung stark blau bis violett, wobei die Intensität der Fluoreszenzfarbe durch Ändern des pH innerhalb der Grenzen von 5—8 kaum beeinflusst wird.

Die Substanz wurde im Hochvakuum bei 130° getrocknet und hält nach der Analyse 1 Mol. Wasser zurück.

C ₇ H ₆ O ₂ N ₆ + H ₂ O (206,17+18)	Ber. C 37,50	H 3,68	N 37,50%
	Gef. „ 38,07	„ 3,77	„ 37,58%

2-(Oximino-methyl)-chinoxalin.

2,1 g o-Phenyldiamin wurden unter Stickstoff in 20 cm³ Wasser, das 1 cm³ Eisessig enthielt, gelöst. Nach dem Erwärmen auf 35° trugen wir 2,25 g fein zerriebenes Diisonitroso-aceton ein, worauf sich farblose Nadeln, die den ganzen Kolben erfüllten, ausschieden. Nach der Zugabe von weiteren 20 cm³ Wasser rührten wir gut durch und erhitzten die Mischung zur Beendigung der Reaktion eine weitere halbe Stunde auf 40°.

Die Substanz krystallisierte man aus Methanol-Wasser, dann aus siedender 2-n. Schwefelsäure um, wusch sie gut mit Wasser und trocknete sie im Hochvakuum bei 100° während zwei Stunden.

C ₉ H ₇ ON ₃ (173,15)	Ber. C 62,43	H 4,11	N 24,28%
	Gef. „ 62,36	„ 4,09	„ 24,61%

Die 2—3 cm langen, dünnen, farblosen, biegsamen Nadeln lösen sich leicht in Alkali und schmelzen bei 204—205°. Die Substanz wurde schon früher aus dem entsprechenden Aldehyd¹⁾ dargestellt und als lange, dünne, farblose Nadeln vom Smp. 197—198° beschrieben. Sie ist gegenüber Säuren sehr beständig und lässt sich auch durch langes Erhitzen mit starker Schwefelsäure und Salzsäure nicht in den Aldehyd verwandeln, noch sonstwie verändern.

2-Amino-6-oxy-9-oxymethylpteridin (?) aus Diaminoaceton.

6 g 2,4,5-Triamino-6-oxypyrimidin-sulfat wurden in einer Auflösung von 15 g Natriumacetat (wasserfrei) und 8 cm³ Eisessig in 600 cm³ Wasser bei 80° unter Stickstoffatmosphäre aufgelöst. Zur klaren, hellgelben Lösung gaben wir 6 g α,α' -Diaminoaceton-dihydrochlorid. Bald begann aus der Lösung die Ausscheidung des Pterins, worauf wir den Stickstoffstrom unterbrachen und kurz Luft durch das Gemisch leiteten. Nach 3 Stunden schied sich kein Niederschlag mehr aus. Das Reaktionsprodukt wurde auf einer Nutsche gesammelt und reichlich mit heißer Essigsäure und heißem Wasser gewaschen, zuletzt mit Alkohol und Äther. Wir erhielten so 4 g eines orangefarbenen Pulvers.

1 g des Rohproduktes krystallisierten wir aus 1,5 Liter siedendem Wasser unter Zusatz von wenig Tierkohle um und gewannen beim langsamen Abkühlen die Substanz in Form langer (bis 1 mm), äußerst dünner, schwach gelber Nadeln. Sie zeigt himmelblaue Fluoreszenzfarbe und gleicht äußerlich vollkommen den Kondensationsprodukten aus Dioxyaceton bzw. Glycerinaldehyd und 2,4,5-Triamino-6-oxypyrimidin. Wie diese ist sie noch bei pH 4—5 in Wasser schwer löslich.

Den Rest des Rohproduktes schlämmten wir in 750 cm³ heißem Wasser auf, versetzten mit Ammoniak, bis Lösung eingetreten war, filtrierten heiß von einer Spur Verunreinigung und säuersten mit Salzsäure soweit an, bis der entstehende Niederschlag fast ganz wieder gelöst war. Nach Zusatz von wenig Tierkohle wurde die heiße Lösung, die fast farblos war, von brauen Flocken abfiltriert und mit Ammoniak auf pH 5 eingestellt. Unter diesen Bedingungen gelingt auch bei einer dermassen konzentrierten Lösung die Krystallisation leicht.

Nach nochmaligem Umkrystallisieren der Substanzen und nach dem Trocknen bei 120° im Hochvakuum während zwei Stunden ergab die Analyse:

C ₇ H ₈ ON ₆ ²⁾ (192,18)	Ber. C 43,75	H 4,21	N 43,75%
C ₇ H ₇ O ₂ N ₅ ³⁾ (193,17)	„ „ 43,51	„ 3,66	„ 36,26%
	Gef. „ 44,21	„ 4,26	„ 37,36%

¹⁾ W. Borsche und W. Doeller, A. 537, 39 (1939).

²⁾ Amino-oxy-aminomethyl-pteridin.

³⁾ Amino-oxy-oxymethyl-pteridin.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, dass das Kondensationsprodukt aus Dioxyaceton und 2,4,5-Triamino-6-oxypryrimidin das 2-Amino-6-oxy-8-oxy-methylpteridin enthält, während im Kondensationsprodukt aus Glycerin-aldehyd und 2,4,5-Triamino-6-oxypryrimidin das 2-Amino-6-oxy-9-oxy-methylpteridin vorliegt. Ersteres lässt sich mit p-Aminobenzoyl-glutaminsäure zur Pteroylglutaminsäure (Folsäure) kondensieren.

In der Kondensation von Glycerinaldehyd-ditoluolsulfonsäure-ester mit 2,4,5-Triamino-6-oxy-pryrimidin und p-Aminobenzoyl-glutaminsäure bei Gegenwart von Natriumjodid wurde eine neue Folsäure-Synthese gefunden.

2,4,5-Triamino-6-oxypryrimidin lässt sich mit Diisonitrosoaceton zum 2-Amino-6-oxy-8 (oder 9)-oximinomethylpteridin kondensieren. Aus Diaminoaceton und 2,4,5-Triamino-6-oxypryrimidin wurde ein 2-Amino-6-oxy-oxymethylpteridin erhalten.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

109. Über Kondensationsprodukte von 2,4,5-Triamino-6-oxy-pryrimidin mit Zuckern

von P. Karrer und R. Schwyz.

(22. III. 48.)

Kürzlich¹⁾ haben wir Kondensationsprodukte von 2,4,5-Triamino-6-oxypryrimidin mit Glucose und Fruktose beschrieben, in denen zwei verschiedene 2-Amino-6-oxy-tetraoxybutyl-pteridine vorliegen. Die eine Verbindung enthält die Tetraoxy-butylgruppe in 8-, die andere in 9-Stellung der Pteridinmolekel.

In einer später erschienenen Mitteilung²⁾ beziehen sich *H. S. Forrest* und *James Walker* auf unsere Untersuchungsergebnisse und behaupten, dass bei Verwendung von Glucose und Fruktose identische Pteridine entstünden. Die englischen Autoren haben dabei übersehen, dass sie unter anderen Versuchsbedingungen als wir arbeiteten. Nach ihren Angaben benutzten sie das Verfahren von *H. Ohle* und *M. Hielscher*³⁾,

¹⁾ P. Karrer, R. Schwyz., B. Erden und A. Siegwart, Helv. **30**, 1031 (1947).

²⁾ Nature **161**, 308 (1948).

³⁾ B. **74**, 13 (1941).