

261. Über Pterinchemie

71. Mitteilung¹⁾

Trennung der Diastereomeren (6*R*)- und (6*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-neopterin

von Hans-Jürg Furrer, Jost H. Bieri und Max Viscontini

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich-Irchel, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(13.IX.79)

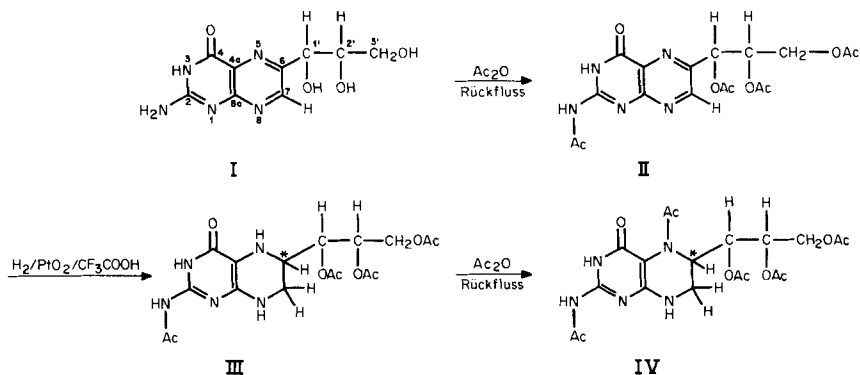
Separation of the Diastereomers (6*R*)- and (6*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-neopterin

Summary

The mixture of the diastereomers of the pentaacetyl derivative IV of (6*RS*)-5,6,7,8-tetrahydro-L-neopterin could be separated by fractional crystallisation in methanol into the diastereomers IV A and IV B. Hydrolysis with hydrochloric acid gives the pure, diastereomeric, (6*R*)- and (6*S*)-5,6,7,8-tetrahydro-L-neopterin.

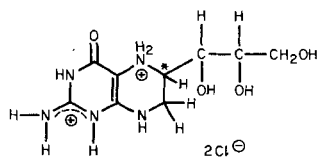
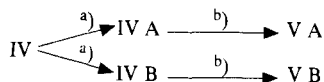
Auf die Bedeutung des Naturproduktes 5,6,7,8-Tetrahydro-D-neopterin in biogenetischen Prozessen, sowie dessen Vorkommen in Lebewesen wurde bereits früher [2] hingewiesen. In der gleichen Mitteilung wurde die Synthese und Charakterisierung (¹H- und ¹³C-NMR., FD., DC., UV.) der Mischung beider diastereomeren (6*RS*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-neopterine beschrieben.

Schema 1



¹⁾ 70. Mitt. s. [1].

Schema 2



a) Fraktionierte Kristallisation aus Methanol. b) 3N HCl, 22°.

V (A oder B)

In Fortsetzung von [2] beschreiben wir jetzt die Trennung der diastereomeren (6*R*)- und (6*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-neopterin. Dabei wurde, ausgehend von L-Neopterin (I) [3], durch Acetylierung mit Essigsäureanhydrid das Tetraacetyl-Derivat II erhalten. Die Herstellung von III erfolgte durch katalytische Hydrierung in Trifluoressigsäure nach [2] [4]. Erneute Acetylierung ergab die Mischung 2-*N*-Acetyl-5-acetyl-1,2,3-tri-*O*-acetyl-(6*RS*)-5,6,7,8-tetrahydro-L-neopterin (IV) (vgl. *Schema 1*).

Durch fraktionierte Umkristallisation aus Methanol wurde IV in die acetylierten Diastereomeren IV A und IV B aufgetrennt. Nach salzsaurer Hydrolyse wurden die (6*R*)- und (6*S*)-Diastereomeren von 5,6,7,8-Tetrahydro-L-neopterin (V A und V B) erhalten (vgl. *Schema 2*). Diese liessen sich mittels ¹³C-NMR.-Spektroskopie und optischer Drehung deutlich voneinander unterscheiden (s. exper. Teil).

Die Figuren 1–3 zeigen die ¹H-NMR.-Spektren im Bereich der Acetylgruppen vom Gemisch der Diastereomeren IV (*Fig. 1*), sowie den getrennten Diastereomeren IV A (*Fig. 2*) und IV B (*Fig. 3*).



Fig. 1. Ausschnitt der Acetylgruppenregion aus dem ¹H-NMR.-Spektrum (60 MHz, d₅-Pyridin) von IV

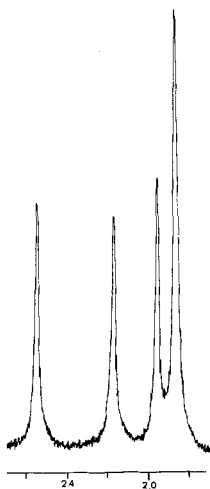


Fig. 2. Ausschnitt der Acetylgruppenregion aus dem ¹H-NMR.-Spektrum (60 MHz, d₅-Pyridin) von IV A



Fig. 3. Ausschnitt der Acetylgruppenregion aus dem ¹H-NMR.-Spektrum (60 MHz, d₅-Pyridin) von IV B

Wir danken Herrn *H. Frohofer*, sowie seinen Mitarbeiterinnen, für Elementaranalysen und optische Drehungen, den Herren *Dr. W. Schwotzer* und *E. Vonbank* (Abteilung Prof. Dr. *W. von Philipsborn*) für ^1H - und ^{13}C -NMR.-Spektren und Herrn Prof. Dr. *M. Hesse* für die Massenspektren.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* Siehe [1]. Die ^1H -NMR.-Spektren wurden mit einem *Varian T-60*- bzw. einem *EM-390*, 90 MHz, aufgenommen (Standard: Tetramethylsilan); chemische Verschiebungen in ppm. Die spezifischen optischen Drehungen $[\alpha]_{589}$ wurden an einem *LEP-A2-Zeiss*-Gerät gemessen; c = Konzentration in %.

2. *2-N-Acetyl-1',2',3'-tri-O-acetyl-L-neopterin* (II). Die Lösung von 1 g (3,95 mmol) I [3] in 130 ml Essigsäureanhydrid und 40 ml Essigsäure wurde 90 Min. unter Rückfluss gekocht und dann eingedampft. Das erhaltene Öl (II) wurde mehrere Male in Methanol bei 22° aufgenommen und hierauf eingeeengt, bis II in fester Form anfiel. Nach Trocknung (6 Std., 40°/0,01 Torr) ergaben sich 1,66 g (100%) II. - $[\alpha]_{589}^{23} = -75,6 \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,7$; CHCl_3). - ^1H -NMR. (60 MHz, CD_3OD): 8,90 (s, H-C(7)); 6,15 (d, $J = 6$ Hz, H-C(1')); 5,60 (m, H-C(2')); 4,38 (m, 2 H-C(3')); 2,30, 2,17, 2,00, 1,97, (4 s, *N*-Acetylgruppe an C(2) und *O*-Acetylgruppen an C(1'), C(2') und C(3')). - ^{13}C -NMR. (CDCl_3): 173,9 (C-N-C(2)); 170,3, 169,5, 169,3 (C-O-C(1',2',3')); 159,6 (C(4)); 154,5 (C(2)); 149,9, 149,5, 149,0 (C(8a), C(6), C(7)); 130,4 (C(4a)); 72,0 (C(1')); 71,3 (C(2')); 61,5 (C(3')); 25,0 ($\text{H}_3\text{C-CO-N-C(2)}$); 20,7, 20,7, 20,6 ($\text{H}_3\text{C-CO-O-C(1',2',3')}$).

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_8$ (421,21) Ber. C 48,47 H 4,51 N 16,63% Gef. C 47,98 H 4,48 N 17,04%

3. *2-N-Acetyl-1',2',3'-tri-O-acetyl-(6RS)-5,6,7,8-tetrahydro-L-neopterin-dihydrochlorid* (III · 2 HCl). Nach der Vorhydrierung von 300 mg PtO_2 in 50 ml Trifluoressigsäure (22°) wurde 1 g (2,37 mmol) II zugegeben. Nach 30 Min. war die Hydrierung beendet (22°/760 Torr). Anschliessend wurde unter Stickstoff vom Katalysator abfiltriert, die farblose Lösung mittels flüssigem Stickstoff ausgefroren und mit einer Lösung (0°) von 1,5 ml 12N HCl, 18 ml Methanol und 180 ml Äther überschichtet. Nach dem Auftauen und Durchmischen wurde III · 2 HCl abzentrifugiert und in einem Handschuhkasten (Inertgas: N_2) mit sauerstofffreiem Äther gewaschen und getrocknet (24 Std., 50°/0,01 Torr): 830 mg (70,3%) III · 2 HCl. $[\alpha]_{589}^{23} = -43,4 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,35$; CH_3OH). - ^1H -NMR. (60 MHz, d_5 -Pyridin): 5,80-5,60 (m, H-C(1') und H-C(2')); 4,75-4,40 (m, 2 H-C(3')); 3,80-3,42 (1 H-C(6) und 2 H-C(7)); 2,40-1,83 (m, *N*-Acetylgruppe an C(2) und *O*-Acetylgruppen an C(1'), C(2') und C(3')). - ^{13}C -NMR. (d_5 -Pyridin): 173,0, 172,9 (C-N-C(2)); 170,5, 170,4, 170,2, 170,1 (C-O-C(1',2',3')); 155,5, 154,9 (C(4)); 147,8, 147,7 (C(2)); 143,7, 143,6 (C(8a)); 105,0, 104,6 (C(4a)); 72,0, 71,4, 71,3 (C(1'), C(2')); 62,2, 61,9 (C(3')); 48,1, 47,2 (C(6)); 43,5, 42,5 (C(7)); 24,2 ($\text{H}_3\text{C-CO-N-C(2)}$); 20,8, 20,7, 20,7 ($\text{H}_3\text{C-CO-O-C(1',2',3')}$).

4. *2-N-Acetyl-5-acetyl-1',2',3'-tri-O-acetyl-(6RS)-5,6,7,8-tetrahydro-L-neopterin-monohydrat* (IV · H_2O). Die Suspension von 1 g (2,0 mmol) III in 80 ml Essigsäureanhydrid 30 Min. wurde unter Rückfluss gekocht und weitere 3 Std. (22°) gerührt. Bis III vollständig gelöst war, wurde in einem Handschuhkasten (Inertgas: N_2) gearbeitet. Nach Einengung der Lösung wurde das als Öl erhaltene IV in Methanol bei 22° aufgenommen und erneut eingeeengt. Das Aufnehmen in Methanol und das Eindampfen wurde solange wiederholt, bis IV in fester Form anfiel. Nach Trocknung (6 Std., 40°/0,01 Torr) ergaben sich 970 mg (100%) IV · H_2O . $[\alpha]_{589}^{23} = -111 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,52$; CHCl_3). - ^1H -NMR. (60 MHz, d_5 -Pyridin) (Fig. 1): 5,85-5,55 (m, 1 H-C(6) und 2 H-C(7)); 5,00-4,50 (m, H-C(1') und H-C(2')); 3,90-3,40 (m, 2 H-C(3')); 2,53, 2,52 (2 s, *N*-Acetylgruppe an C(2)); 2,17, 2,16, 2,03, 2,00, 1,97, 1,96, 1,85 und 1,84 (8 s, 5-Acetylgruppe und *O*-Acetylgruppen an C(1'), C(2') und C(3')). - MS. $[m/z$ (rel.%): 467 (M^+ , 5), 425 (50), 208 (100), 166 (20).

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (485,23) Ber. C 47,03 H 5,56 N 14,42% Gef. C 46,73 H 5,94 N 14,00%

5. *2-N-Acetyl-5-acetyl-1',2',3'-tri-O-acetyl-(6R oder S)-5,6,7,8-tetrahydro-L-neopterin-monohydrat* (IV A · H_2O). Aus der bei 60° hergestellten Lösung von 1 g (2,06 mmol) IV · H_2O in 200 ml Methanol kristallisierte beim Stehenlassen (48 Std., 0°) IV A aus, dass noch 2mal aus Methanol umkristallisiert, abfiltriert, mit Äther gewaschen und getrocknet (6 Std., 50°/0,01 Torr) wurde: 360 mg (36%) IV A · H_2O . $[\alpha]_{589}^{23} = +34,2 \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; Pyridin). - ^1H -NMR. (60 MHz, d_5 -Pyridin) (Fig. 2): 5,85-5,55 (m, 1 H-C(6) und 2 H-C(7)); 5,00-4,70 (m, H-C(1') und H-C(2')); 3,60-3,40 (m,

2 H-C(3')); 2,53 (*s,N*-Acetylgruppe an C(2); 2,17, 1,97, 1,85 und 1,84 (4*s,N*(5)-Acetylgruppe und *O*-Acetylgruppen an C(1'), C(2') und C(3')).

6. 2-*N*-Acetyl-5-acetyl-1',2',3'-tri-*O*-acetyl-(6*S* oder *R*)-5,6,7,8-tetrahydro-*L*-neopterin-monohydrat (IV B · H₂O). Die methanolische Mutterlauge (ca. 200 ml), welche unter Kap. 5 anfiel, wurde auf 30 ml eingeeengt; durch Stehenlassen (4 Tage, 0°) kristallisierte IV B aus. Zur vollständigen Entfernung von IV A musste noch 2mal fraktioniert aus Methanol umkristallisiert werden. Filtration, Waschen mit Äther und Trocknen (6 Std., 50°/0,01 Torr) ergaben 250 mg (25%) IV B · H₂O. $[\alpha]_{589}^{23} = -3,8 \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,06$; Pyridin). - ¹H-NMR. (60 MHz, d₅-Pyridin) (Fig. 3): 5,85-5,55 (*m*, 2 H-C(3')); 5,00-4,70 (*m*, H-C(1') und H-C(2')); 3,90-3,40 (*m*, 2 H-C(3')); 2,52 (*s,N*-Acetylgruppe an C(2)); 2,16, 2,03, 2,00 und 1,96 (4*s,5*-Acetylgruppe und *O*-Acetylgruppen an C(1'), C(2') und C(3')).

7. (6*R* oder *S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-*L*-neopterin-dihydrochlorid (V A). Die bei 22° hergestellte Lösung von 1 g (2,06 mmol) IV A · H₂O in 200 ml 3*N* HCl wurde in einem Handschuhkasten (Inertgas: N₂) 3 Std. gerührt, alsdann eingedampft und getrocknet (24 Std., 50°/0,01 Torr): 680 mg (100%) V A · 2 HCl. $[\alpha]_{589}^{23} = -31,3 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,69$; 0,1*N* HCl). - ¹H-NMR. (60 MHz, 3,0*N* DCl): 4,80-4,25 (*m*, H-C(6,7,1',2',3')). - ¹³C-NMR. (3,0*N* NaOD): 166,9 (C(4)); 157,4 (C(2)); 151,3 (C(8a)); 101,2 (C(4a)); 73,2 (C(1')); 72,4 (C(2')); 63,8 (C(3')); 52,8 (C(6)); 41,8 (C(7)).

8. (6*S* oder *R*)-5,6,7,8-Tetrahydro-*L*-neopterin-dihydrochlorid (V B). Die Behandlung von 1 g (2,06 mmol) IV B · H₂O wie unter Kap. 7 beschrieben ergab 680 mg (100%) V B · 2 HCl. $[\alpha]_{589}^{23} = +43,2 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,58$; 0,1*N* HCl). - ¹H-NMR. (60 MHz, 3,0*N* DCl). Mit den Daten von Kap. 7 identisch. - ¹³C-NMR. (3,0*N* NaOD): 166,6 (C(4)); 157,3 (C(2)); 151,0 (C(8a)); 101,6 (C(4a)); 73,0 (C(1')); 72,3 (C(2')); 63,5 (C(3')); 51,8 (C(6)); 42,8 (C(7)).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 70. Mitt.: E. Khalita, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* 62, 1340 (1979).
- [2] B. Schircks, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* 59, 248 (1976).
- [3] M. Viscontini & R. Provenzale, *Helv.* 51, 1495 (1968); M. Viscontini, R. Provenzale, S. Ohlgart & J. Mallevialle, *ibid.* 53, 1202 (1970).
- [4] A. Bobst & M. Viscontini, *Helv.* 49, 875 (1966).