

Arch. Pharm. (Weinheim) 313, 937–950 (1980)

Donator-substituierte 5-Desazaflavine, 2. Mitt.¹⁾

Hydroxy- und 8-Dimethylamino-5-desazaflavine – Modellverbindungen natürlicher (Desaza-)Flavocoenzyme

Rolf W. Grauert

Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin, Königin-Luise Str. 2–4, 1000 Berlin 33
Eingegangen am 3. Januar 1980

Donator-substituierte 5-Desazaflavine **7** werden mit Hilfe einer Vilsmeier-Reaktion aus Anilino-uracil-Derivaten **5** über die isolierbare Zwischenstufe **6** dargestellt. Der spektroskopische Vergleich der 5-Desazaflavine **7** zeigt, daß die Konjugationsfähigkeit der Substituenten in der Reihenfolge: 8-CH₃, 7-OH, 8-OH, 8-OCH₃, 8-NH₂, 8-N(CH₃)₂ und 8-O⁻ zunimmt. Die 8-Hydroxy-Verbindung **7b** ist Modellsubstanz für ein natürliches 8-Hydroxy-5-desaza-FMN, welches in methanogenen Bakterien aufgefunden wurde. **7b** und das 8-Dimethylamino-Derivat **7k** sind isoelektronisch zu entsprechenden Flavocoenzymen mit 8-Hydroxy- und 8-Dimethylamino-Funktion.

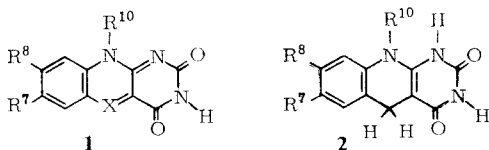
Donator-substituted 5-Deazaflavins, II:¹⁾

Hydroxy- and 8-Dimethylamino-5-deazaflavins – Model Compounds of Naturally Occuring (Deaza-)Flavocoenzymes

Donator-substituted 5-deazaflavins **7** were prepared by a Vilsmeier procedure from the anilino-uracil derivatives **5** via **6** as stable intermediates. Spectroscopic comparison of the 5-deazaflavins **7** shows, that resonance of the substituents increases in the sequence: 8-CH₃, 7-OH, 8-OH, 8-OCH₃, 8-NH₂, 8-N(CH₃)₂ and 8-O⁻. The 8-hydroxy derivative **7b** is a model compound of a natural 8-hydroxy-5-deaza-FMN, which was found in methanogenic bacteria. Compound **7b** as well as the 8-(dimethylamino)deazaflavin **7k** are isoelectronic with the flavocoenzymes with 8-hydroxy and 8-dimethylamino functions.

Im 5-Desazaflavin (10-Alkyl-7,8-dimethyl-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**1a**, R⁷ = R⁸ = CH₃) ist N-5 des Flavochinons **1b** ersetzt durch eine Methin-Gruppe. Damit ist **1a** strukturell abgeleitet vom Flavin. Die Redox-Eigenschaften von **1a** sind jedoch Nicotinamid-analog, da es ausschließlich 2e⁻-Oxidoreduktionen zugänglich ist²⁾. Die Einführung eines Donator-Substituenten in die 8-Position des Desazaflavins führt, wie an der 8-Amino-Verbindung gezeigt¹⁾, zu einer höheren Reaktionsfähigkeit des reduzierten Systems **2a**, (R⁸ = NH₂) gegenüber 1e⁻-Oxidationsmitteln und Sauerstoff, sowie zu einer verminderten Reaktivität der oxidierten Stufe **1a** gegenüber Hydrid-Ionen.

8-Amino-desazaflavin kann daher in seiner Funktion eine Mittelstellung einnehmen zwischen den natürlichen Coenzymen NAD (mit ausschließlicher Hydrid-Aktivität) und Flavin (mit reversibler $1e^-$ -Oxidoreduktion).



a: X = CH **b:** X = N

Ein donator-substituiertes 5-Desazaflavin ist kürzlich als Bestandteil methanogener Bakterien (Faktor F_{420}) aufgefunden und isoliert worden³⁾. F_{420} besitzt die Struktur eines 8-Hydroxy-5-desaza-FMN^{3,4)} und ist Coenzym eines NAD(P) gekoppelten (De-)Hydrogenase Systems⁵⁾: Es überträgt Elektronen von der Eisen-Schwefel-haltigen Hydrogenase auf NAD(P) und ist damit am Elektronen-Transport vom CO_2 zum Methan beteiligt⁶⁾.

Im folgenden wird über die Synthese und spektroskopischen Eigenschaften weiterer donator-substituierter 5-Desazaflavine mit 7-Hydroxy-, 8-Hydroxy-, 8-Methoxy- und 8-Dimethylamino-Funktionen berichtet. Diese Verbindungen sollen als Modellschubstanzen des natürlichen 5-Desazaflavin-Coenzym, analog der 8-Amino-Verbindung, auf ihre $1e^-$ - bzw. $2e^-$ -Oxidoreduktions-Eigenschaften untersucht werden.

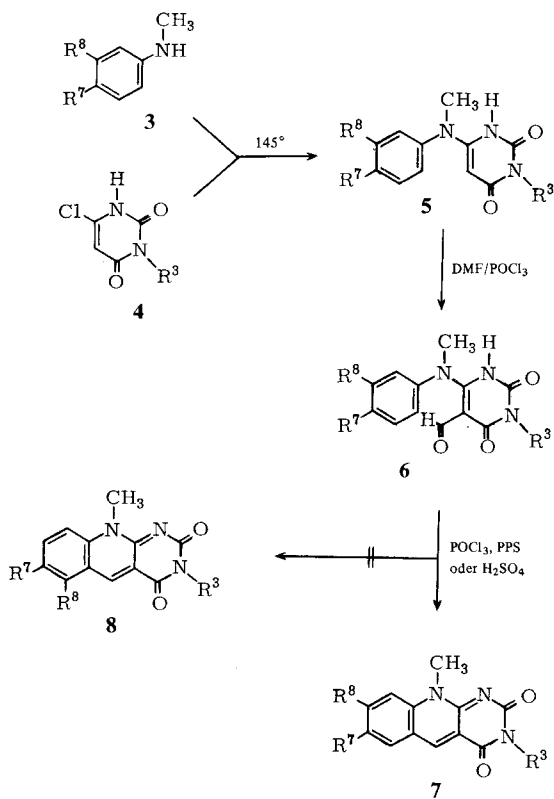
Die Synthese der 5-Desazaflavine **7** erfolgt analog den schon beschriebenen 8-Nitro- und 8-Chlor-Verbindungen¹⁾. Sie geht aus von entsprechend substituierten Anilinouracil-Derivaten **5**, welche mit Hilfe einer Vilsmeier-Reaktion 5-ständig formyliert werden. Das Zwischenprodukt **6** wird durch überschüssiges $POCl_3$ in situ zum Desazaflavin cyclisiert (Schema 1),

Man erhält die 8-Hydroxy-Verbindungen **7b–d** unter den beschriebenen Bedingungen direkt aus **5b–d** in 50–80proz. Ausbeuten. Das 7-Hydroxy-derivat **7f** entsteht unter gleichen Reaktionsbedingungen nur zu ca. 30 %. Der Rest der eingesetzten Menge wird auf der Stufe der 5-Formyl-Verbindung **6f** isoliert und nach¹⁾ mit Polyphosphorsäure oder konzentrierter Schwefelsäure in **7f** überführt. Der hierbei entstehende Phosphorsäureester **7g** wird sauer zu **7f** hydrolysiert. Die 8-Methoxy- und 8-Dimethylamino-Verbindungen **7e** und **7k** werden aus **5e** und **k** nahezu quantitativ erhalten. Das bereits beschriebene 8-Amino-desazaflavin **7h**¹⁾ ist auf diesem direkten Wege einfacher darstellbar: Man erhält aus **5h** die N-Formyl-Verbindung **7i**, die sauer zu **7h** hydrolysiert wird.

Isomere 6-substituierte Derivate **8**, wie sie bei der Synthese der Nitro- und Chlor-desazaflavine anfallen¹⁾, treten bei den vorliegenden Reaktionen nicht auf. Der elektrophile Angriff in p-Stellung zu den Substituenten ist offensichtlich bei Donator-Substitution gegenüber dem o-Angriff kinetisch so stark begünstigt, daß es nicht zu Bildung von **8** kommt.

In **Tab. 1** sind die 1H -NMR- und UV/Vis-spektroskopischen Daten der Desazaflavine **7** mit den bekannten Verbindungen **7a** und **7h** aufgeführt.

Schema 1



	R^3	R^7	R^8
a	CH_3	CH_3	CH_3
b	H	H	OH
c	CH_3	H	OH
d	CH_3	CH_3	OH
e	CH_3	CH_3	OCH_3
f	CH_3	OH	H
g	CH_3	OPO_3H_2	H
h	CH_3	CH_3	NH_2
i	CH_3	CH_3	NHCHO
k	CH_3	CH_3	$\text{N}(\text{CH}_3)_2$

Tab. 1: UV/VIS und ¹H-NMR-Daten der 5-Desazaflavine 7

Ver- bin- dung	Substituent in Position			Lösungsmittel	Elektronenspektren ^{a)} $\lambda_{\max}$ [nm] (ϵ [mmol ⁻¹ cm ⁻¹])		Ladung	pK
3	7	8						
7a	CH ₃	CH ₃	CH ₃	1N-HCl	351 (18.7), 259 (37.0)		+	1.8
				Puffer pH6 ^{b)}	401 (12.0), 329 (10.0), 259 (36.8)	0		
7b	H	H	OH	1N-HCl	373 (31.0), 270s (21.0), 250 (25.0)		+	1.9 ± 0.2
				Puffer pH4 ^{c)}	393 (20.6), 382s (20.0), 335s (7.0)	0		
					275s (19.0), 263 (23.4), 250 (27.2)			5.9 ± 0.2
				Puffer pH8 ^{b)}	417 (43.4), 293 (13.4), 265 (25.7)	—		12.5 ± 0.2
					245 (30.6)			
7c	CH ₃	H	OH	1N-NaOH	417 (48.3), 288 (10.0), 255s (22.5)	—	—	
					245 (31.3)			
				1N-HCl	373 (35.0), 257 (25.6), 245s (33.4)	+		1.9 ± 0.1
				Puffer pH4	394 (22.6), 386s (22.5), 325s (7.3)	0		6.2 ± 0.1
7d	CH ₃	CH ₃	OH		275s (22.0), 265s (25.6), 251 (32.0)			
				0.1N-NaOH	417 (41.2), 291 (10.5), 265s (26.3)	—		
					244 (30.0)			
				1N-HCl	369 (36.0), 258 (31.5)	+		1.9 ± 0.05
7e	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	Puffer pH4	402s (22.4), 392s (23.5), 345s (7.4)	0		5.9 ± 0.05
					270s (19.6), 247 (48.5)			
				0.1N-NaOH	424 (46.1), 291 (10.0), 265 (26.2)	—		
					253 (32.5)			
7f	CH ₃	OH	H	1N-HCl	378 (35.4), 257 (31.9)	+		1.8 ± 0.1
				Puffer pH4	403 (20.1), 393s (20.0), 343 (6.8)	0		
					274 (18.7), 251 (30.0)			
7g	CH ₃	OH	H	1N-HCl	395 (7.1), 331 (17.0), 266 (36.3)	+		1.6 ± 0.1
				Puffer pH4	420 (11.2), 329 (12.5), 278s (21.0)	0		8.2 ± 0.2
					262 (46.0)			
				0.1N-NaOH	473 (8.5), 347 (14.0), 336s (11.8)	—		
7h ¹⁾	CH ₃	CH ₃	NH ₂		295 (35.8), 271 (34.0)			
				12N-HCl	357 (8.3), 329 (12.5), 255 (32.0)	++		< 0
				1N-HCl	421 (28.6), 293 (12.6), 240 (33.4)	+		2.5 ± 0.1
				Puffer pH6 ^{b)}	421 (37.5), 293s (00.0), 265s (00.0)	0		
7k	CH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂ /6N		245 (41.8)			
				6N-HCl	371s (8.2), 358 (10.1), 325 (16.5)	++		< 0
					256 (42.0)			
				0.1N-HCl	448 (17.5), 309 (10.0), 246 (37.4)	+		2.7 ± 0.2
				Puffer pH5 ^{c)}	432 (32.1), 305s (5.0), 270s (25.2)	0		
					251 (42.0)			

Lösungs- mittel	¹ H-NMR-Signale (δ-Werte; ppm) der Protonen in Position						
	5	6	7	8	9	3-CH ₃	10-CH ₃
CF ₃ COOH	9.65	8.10	2.67 (CH ₃)	2.80 (CH ₃)	8.20	3.65	4.51
CDCl ₃	8.75	7.38	2.42 (CH ₃)	2.53 (CH ₃)	7.56	3.48	4.12
DMSO [d ₆]	8.78	7.85d (8 Hz)	7.05– 7.15 cm breit	10.8 (OH)	7.05– 7.15 cm breit	10.5 breit (NH)	3.91
CF ₃ COOH	9.39	8.23d (8 Hz)	7.53dd (8+1.5 Hz)	11.25 (OH)	7.56d (1.5 Hz)	10.9 (NH)	4.38
D ₂ O, 5 % Na ₂ CO ₃	7.23	6.86d (8 Hz)	6.33dd (8+2 Hz)	–	5.8 d (2 Hz)	–	3.17
DMSO [d ₆]	8.75	7.93d (8 Hz)	6.90dd (8+2 Hz)	11.1 (OH)	7.00d (2 Hz)	3.27	3.94
CF ₃ COOD 50proz.	9.35	8.3	7.6	–	7.7	3.62	4.42
D ₂ O, 5 % Na ₂ CO ₃	7.05	6.75d (9 Hz)	6.26dd (9+2 Hz)	–	5.76d (9 Hz)	2.67	3.40
DMSO [d ₆]	8.77	7.90	2.24 (CH ₃)	11.3 (OH)	7.10	3.23	3.94
CF ₃ COOD	9.30	8.10	2.51 (CH ₃)	–	7.55	3.60	4.35
D ₂ O, 5 % Na ₂ CO ₂	7.20	6.68	1.87 (CH ₃)	–	5.90	2.83	3.23
CDCl ₃	8.70	7.53	2.31 (CH ₃)	4.18 (OCH ₃)	6.85	3.43	4.00
CF ₃ COOH	9.45	8.08	2.47 (CH ₃)	4.43 (OCH ₃)	7.42	3.60	4.24
DMSO [d ₆]	8.80	7.39d (2 Hz)	10.12 (OH)	7.47dd (8+2 Hz)	7.80 (8 Hz)	3.25	4.02
D ₂ O, 5 % Na ₂ CO ₃	7.62	6.36	–	7.01	7.01	2.80	3.33
DMSO [d ₆]	8.84	7.61	2.17 (CH ₃)	3.8 (NH ₂)	6.77	3.20	3.84
DMSO [d ₆]	8.70	7.82	2.41 (CH ₃)	3.12 [N(CH ₃) ₂]	6.97	3.24	4.00

a) s = Schulter

b) Citrat-Natronlauge

c) Borat-Natronlauge

Die Hydroxy-Verbindungen **7b–d** sind ^1H -NMR-spektroskopisch jeweils als Neutral-Verbindungen, Anionen und Kationen charakterisiert. Die Aufspaltungen der aromatischen Protonen aller Desazaflavine **7** belegen eindeutig die Abwesenheit der isomeren 6-substituierten Verbindungen **8**.

In **Abb. 1** sind die Elektronenspektren der 8-Hydroxy- **7d** 8-Methoxy- **7e** und 8-Dimethylamino-Verbindung **7k** verglichen.

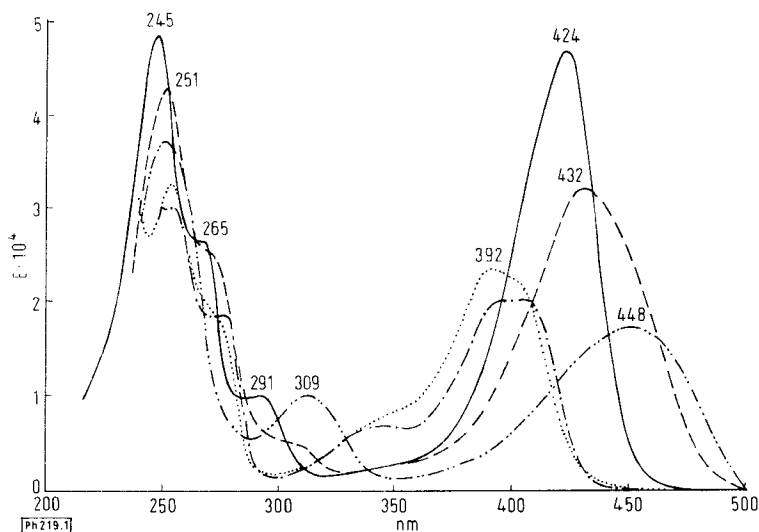


Abb. 1:

UV/Vis-Spektren der 5-Desazaflavine **7d**, **7e** und **7k**

— **7d** in Puffer ^{a)} pH 8

... in Puffer ^{b)} pH 4

--- **7e** in Puffer ^{b)} pH 4

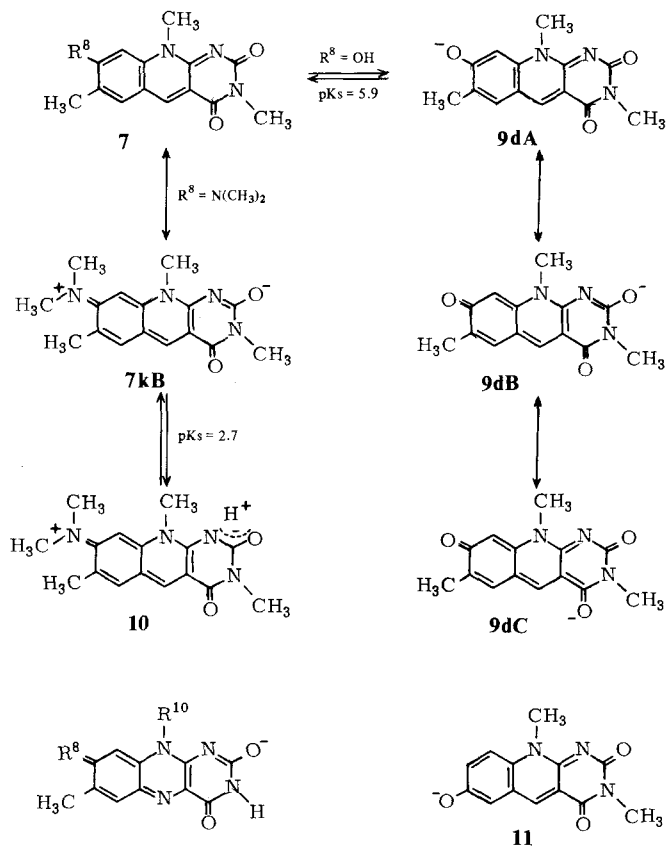
----- **7k** in Puffer ^{c)} pH 6 -.-.-. in 0.1 N-HCl

a) Borat-Natronlauge, b) Citrat-Salzsäure, c) Citrat-Natronlauge.

Konjugationsfähige Substituenten in 8-Position verändern den Chromophor des Desazaflavins in Abhängigkeit von ihrer Donator-Fähigkeit: Der Vergleich der Spektren der 8-Methyl-, 8-Methoxy-, 8-Hydroxy-, 8-Amino-, 8-Dimethylamino- und 8-Hydroxy-lat-Verbindungen **7a**, **7e**, **7d**, **7h**, **7k**, und **9** zeigt die Zunahme der Beteiligung der Substituenten an der tricyclischen Resonanz in dieser Reihenfolge. Bei den 8-Hydroxy-Derivaten **7b–d** und der 8-Methoxy-Verbindung **7e** beweist der im Vergleich zu **7a** deutliche Rückgang der Absorption bei 320 nm und die starke Erhöhung der Intensität des langwelligen Übergangs die Beteiligung des 8-ständigen Substituenten an der heterocyclischen Resonanz. Deprotonierung der 8-Hydroxy-Gruppe ($\text{pK}_s = 5.9$ führt zu einer

drastischen Veränderung des Chromophors: Die negative Ladung ist delokalisiert von O-8 α nach O-2 α bzw. O-4 α . Das Anion **9d** muß daher durch die Grenzformeln **9dA**, **B** und **C** beschrieben werden. Die Chromophore der 8-Amino-desazaflavine **7h** und **k** entsprechen denen der Anionen **9**, so daß **7h** und **k** als Betaine **7hB** bzw. **7kB** vorliegen. Dies wird unterstützt durch die sehr schwache Basizität der Amino- und Dimethylamino-Gruppen ($pK_s < 0$) und die Tatsache, daß das langwellige Maximum des Kations **10** (Abb. 1) im Vergleich zu **7k** eine bathochrome Verschiebung aufweist. Erste Protonierung ($pK_s = 2.5$ bzw. 2.7) an **7h** und **k** erfolgt demnach an N-1 oder O-2 α .

Schema 2



12, R¹⁰ = d-Ribityl

- a R⁸ = O
 b R⁸ = N[⊕](CH₃)₂

In **Abb. 2** sind die Elektronenspektren der Neutralverbindung, des Kations und Anions des 7-Hydroxy-derivats **7f** dargestellt.

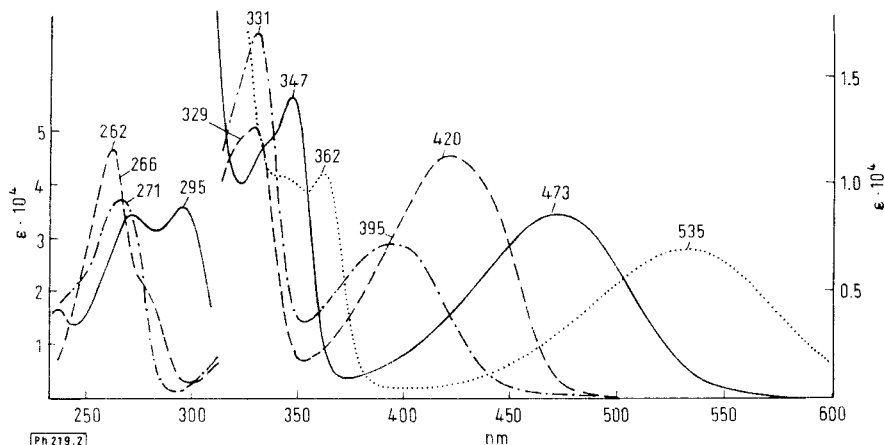


Abb. 2: UV/Vis-Spektren des 7-Hydroxy-5-desazaflavins **7f** ——— in Puffer^{a)} pH 4; - - - in 1N-HCl; — in 0,1-N NaOH; in 0,1-N NaOH 5 %, DMF^{b)} 95 %
a) Citrat-Salzsäure, b) Dimethylformamid.

Der Donator-Substituent in 7-Position hat keinen vergleichbaren Einfluß auf den Grundzustand des Desazaflavin-Moleküls. Lage und Intensitäten der Maxima von **7f** entsprechen denen der 7,8-Dimethylverbindung **7a** (Rotverschiebung um 20 nm). Deprotonierung der OH-Gruppe ($pK = 8.2$) verschiebt beide Absorptionsmaxima stark bathochrom, bei wesentlich geringerer Intensität des langwelligen Übergangs. Im Vergleich zu **9** ist der Extinktionskoeffizient von **11** etwa um den Faktor 5 verringert. Das Anion **11** zeigt darüberhinaus eine stark negative Solvatochromie, während das langwellige Maximum von **9** durch Veränderung des Lösungsmittels nur geringfügig beeinflußt wird: An **11** beträgt die Differenz der Absorptionsmaxima beim Übergang von Wasser zu Dimethylformamid 70 nm (Tab. 2).

Tab. 2: Absorptionsmaxima der Anionen **9** und **11** in verschiedenen Lösungsmitteln (nm)

Verbin- dung	0.1 N- NaOH	Methanol 95 %	Ethanol 95 %	Acetoni- tril 95 %	Dimethylformamid 95 %	90%	66 %	33 %
9	423	431	435	434	444	—	—	—
	290	293	295	298	305	—	—	—
11	473	486	496	503	535	524	505	489
	347	355	355	355	362	361	354	352

Aus den pK_s -Werten, der Lage der längstwelligsten Maxima und der Solvatochromie der Anionen **9** und **11** ist abzuleiten, daß im Falle von **9** die negative Ladung im Grundzustand resonanzstabilisiert ist, während in **11** die Verteilung der Ladung, und damit die Verringerung der Polarität, in nicht bindenden Orbitalen erfolgt.

8-ständig donator-substituierte Derivate finden sich auch in der Reihe der natürlichen Flavocoenzyme. Bisher konnten 6-, 8- und 9-ständig hydroxylierte Flavocoenzyme^{7,8)} sowie ein 8-Dimethylaminoflavochinon (Roseoflavin)⁹⁾ isoliert und identifiziert werden. Der Vergleich der Modellsbstanzanzen **7a**, **7b** und **7k** mit den natürlichen Systemen zeigt, daß gleich substituierte Flavine und 5-Desazaflavine isoelektronisch sind (Tab. 3). N-5 der Flavochinone bewirkt gegenüber dem Kohlenstoff in 5-Position eine Verschiebung aller langwelliger Maxima um 40 bis 60 nm und eine Erhöhung der Acidität etwa um den Faktor 10. Extinktionen und Absorptionsmaxima von **7b** und F_{420} (8-Hydroxy-5-desaza-FMN) stimmen erwartungsgemäß überein.

Tab. 3: Vergleich der Absorptionsmaxima [nm] ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) und pK -Werte der Desazaflavine **7a**, **7b** und **7k** mit (5-Desaza)Flavocoenzymen

Puffer/ pK	7a $R^8 = CH_3$	7b OH	7k $N(CH_3)_2$	$F_{420}^{3)}$ OH	Ribo- ¹⁰⁾ flavin CH_3	8-Hydroxy- ⁸⁾ flavin OH	Roseo- ⁹⁾ flavin $N(CH_3)_2$
pH 13		417 (48.3) 288 (10.0)	432 (32.1) 305s (5.0)	420 (54.3) 290 (11.4)	444 (11.0) 352 (10.0)	472 (53.2) 283 (11.1)	492 (26.6) 308 (6.0)
pH 9	401 (12.0) 329 (10.0)	417 (43.4) 293 (13.4)		420 (45.5) 295 (13.6)	445 (12.5) 373 (10.6)	472 (41.0) 300 (10.7)	505 (31.1) 314 (8.0)
pH 3		393 (20.6) 382s (20.0)		395 (27.4) 385s (25.7)		435 (26.0) 262 (31.0)	
pH 0	351 (18.7)	373 (31.0)	448 (17.5) 309 (16.0)	375 (32.8)			519 (17.8) 328 (12.5)
6 N-HCl			371s (8.2) 358 (10.1) 325 (16.5)		398 (22.4)	422 (33.6) 258 (25.0)	402 (8.8) 364 (12.1)
pK_s^1	1.8	1.9	0	1.7	0	0.7	0
pK_s^2	—	5.9	2.7	6.3	—	4.8	1.6
pK_s^3	—	12.5	—	12.2	10.8	11.5	10.8

Inwieweit das 8-Hydroxy-5-desazaflavocoenzym funktionell mit entsprechend substituierten Flavochinonen verwandt ist, hängt von seiner Fähigkeit ab, reversible $1e^-$ -Oxidoreduktion zu bewerkstelligen. Studien an den oben beschriebenen Modellsbstanzanzen sollen zur Klärung dieser Frage beitragen.

Experimenteller Teil

¹H-NMR-Spektren: Bruker WP 60, TMS inn. Stand. *IR-Spektren:* Gitterspektrometer 621 Perkin Elmer. *Massenspektren:* Varian MAT CH 7. *Elektronenspektren:* 635 M und Superscan 3. Varian. *Schmp.:* (Kofler Block) nicht korr. *Elementaranalysen:* mikroanalytisches Laboratorium des Pharmazeutischen Institutes der Freien Universität Berlin.

3-Methylaminophenol (**3b**)

Die Darstellung erfolgt ausgehend von 3-Nitroanilin durch Acetylierung, Methylierung, Reduktion, Diazotierung, Verkochen des Diazoniumsalzes und Hydrolyse des Amids. Ausb.: ca. 30 %. Sdp. 107°/0.4 Torr (Lit.¹¹); Sdp. 170°/12 Torr).

2-Methyl-5-methylaminophenol (**3c**)

Ausgehend von N-Methyl-N-(4-methyl-3-nitrophenyl)-acetamid¹ erhält man **3c** durch Reduktion, Diazotierung, Verkochen und Hydrolyse in 45proz. Ausbeute. Schmp.: 119°, C₈H₁₁NO (137.18). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.16 s (3H, 2-CH₃), 2.81 s (3H, N-CH₃), 4.06 s (breit, 2H, NH und OH), 6.10 d (1H, J = 1.5Hz, 6-H), 6.16 dd (1H, J_A = 8Hz, J_B = 1.5Hz, 4-H), 6.93 d (1H, J = 8Hz, 3-H).

N,4-Dimethyl-3-methoxyanilin (**3e**)

Aus 3-Methoxy-4-methylanilin durch Acetylierung, Methylierung und Hydrolyse. Ausb.: 72 %, Sdp.: 127°/11 Torr. C₉H₁₃NO (151.19). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.09 s (3H, 4-CH₃), 2.80 s (3H, N-CH₃), 3.40 s (1H, NH), 3.77 s (3H, OCH₃), 6.06–6.16 cm (2H, 2- und 6-H), 6.89 d (1H, J = 8Hz, 5-H).

5-Methylamino-2,N,N-trimethylanilin (**3k**)

Aus N-(4-Methyl-3-nitrophenyl)acetamid durch Reduktion, Permethylierung und Hydrolyse. Ausb.: 39 %, Sdp.: 93°/0.1 Torr (Lit.¹²) Sdp.: 142°/25 Torr.)

6-Chlor-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (**4**, R³ = H)

Nach Lit.¹³).

6-Chlor-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (**4**, R³ = CH₃)

Aus Methylbarbitursäure und POCl₃ nach Lit.¹⁴).

6-(N-Methyl-anilino)-uracil-Derivate **5** –Allgemeine Vorschrift in Anlehnung an Yoneda und Ichiba¹⁵)

30 mmol der entsprechenden sekundären Amine **3** werden mit 10 mmol 6-Chloruracil bzw. 6-Chlor-3-methyl-uracil gut verrieben und bei 145° 0.5 h trocken unter Rühren erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch mit 30 ml Ethanol kristallisiert und nacheinander mit 30 ml Wasser, 20 ml Ethanol und 50 ml Ether gewaschen.

6-(3-Hydroxy-N-methyl-anilino)-2,4-(1H, 3H)-pyrimidindion (5b)

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 3.20 s (3H, N-CH₃), 4.32 s (1H, 5-H), 6.61 d (1H, J = 2Hz, 2-H), 6.68 dd (2H, J_A = 2Hz, J_B = 8Hz, 4- und 6'-H), 7.24 d (1H, J = 8Hz, 5'-H), 9.65 s (1H, OH), 10.15s (1H, 3-H), 10.46s (1H, 1-H).

6-(3-Hydroxy-N-methyl-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (5c)

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 3.07 s (3H, 3-CH₃), 3.23 s (3H, Ar-NCH₃), 4.50 (1H, 5-H), 6.6–6.75 cm (3H, 2-, 4- und 6'-H), 7.25 d (1H, J = 7Hz, 5-H), 9.8 s (1H, OH), 10.4 s (1H, NH).

6-(N,4-Dimethyl-3-hydroxy-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (5d)

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 2.13 s (3H, 4'-CH₃), 3.05 s (3H, 3-CH₃), 3.12 s (3H, Ar-NCH₃), 4.47 d (1H, J = 2Hz, 5-H), 6.58 dd (1H, J_A = 2Hz, J_B = 9Hz, 6-H), 6.64 d (1H, J = 2Hz, 2-H), 7.10 d (1H, J = 9Hz, 5'-H), 9.54 s (1H, OH), 10.31 d (1H, J = 2Hz, NH).

6-(N,4-Dimethyl-3-methoxy-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (5e)

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 2.16 s (3H, 4'-CH₃), 3.06 s (3H, 3-CH₃), 3.25 s (3H, Ar-NCH₃), 3.78 s (3H, OCH₃), 4.45 d (1H, J = 2Hz, 5-H), 6.74 dd (1H, J_A = 2Hz, J_B = 7,5Hz, 6'-H), 6.82 d (1H, J = 2Hz, 2-H), 7.18 d (1H, J = 7.5Hz, 5'-H), 10.32 d (1H, J = 2Hz, NH).

6-(4-Hydroxy-N-methyl-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)pyrimidindion (5f)

¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 3.04 s (3H, 3-CH₃), 3.19 s (3H, Ar-NCH₃), 4.32 s (1H, 5-H), 6.78 d (2H, J = 9Hz, 2- und 6'-H), 7.06 d (2H, J = 8.7Hz, 3- und 5'-H), 9.61 s (1H, OH), 10.24 s (1H, NH).

6-(N,4-Dimethyl-3-dimethylamino-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)pyrimidindion (5k)

Abweichend von der allgemeinen Vorschrift wird die trocken erhitzte Reaktionslösung mit 50 ml Wasser versetzt, mit NaHCO₃ auf pH 6 eingestellt und 3 mal mit 30 ml Chloroform extrahiert. Nach dem Eindampfen der Chloroform-Phase erhält man einen öligen Rückstand, der mit 30 ml Ether kristallisiert wird. ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.35 s (3H, 4'-CH₃), 2.73 s (6H, N(CH₃)₂), 3.24 s (6H, 3-CH₃ und Ar-NCH₃), 4.96 d, nach D₂O-Austausch s (1H, J = 2.5Hz, 5-H), 6.66–6.83 m (2H, 2- und 6'-H), 7.21 d (1H, J = 8Hz, 5'-H), 7.6 s (breit, 1H, NH).

6-(3-Amino-N,4-dimethyl-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (5h)

Abweichend von der allgemeinen Vorschrift: 1.0 g (3.8 mmol) 6-(N,4-Dimethyl-3-nitro-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion¹⁾ wird in 50 ml Eisessig gelöst und mit Pd/Kohle 2.5 h bei 1.5 atm hydriert. Die filtrierte Lösung wird zur Trockne eingengt, mit 30 ml 5proz. NaHCO₃-Lösung versetzt und der Niederschlag gesammelt. Durch CHCl₃-Extraktion der Hydrogencarbonat-Lösung erhält man weiteres **5h**. Umkristallisation aus Ethanol. ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.16 s (3H, 4'-CH₃), 3.17 s (3H, 3-CH₃), 3.22 s (3H, Ar-NCH₃), 3.6 s (breit, 2H, NH₂), 4.92 s (1H, 5-H), 6.47 dd (1H, J_A = 3Hz, J_B = 9Hz, 6'-H), 6.49 d (1H, J = 3Hz, 2-H), 7.09 d (1H, J = 9Hz, 5'-H), 7.9 s (1H, NH). Physikal. Daten von **5b–k** in Tab. 4.

6-Anilino-5-formyl-uracile 6

6a–e, h und **k** wurden nicht isoliert, sondern durch Erhitzen die Reaktionslösung weiter umgesetzt zu **7**. Im Falle der Verbindung **6f** findet man auch nach längerem Erhitzen mit POCl₃/Dimethylformamid keine vollständige Umsetzung zu **7f**. Wird die Reaktion von **5f** mit POCl₃/Dimethylformamid unter Eiskühlung geführt, erhält man 5-Formyl-6-(4-hydroxy-N-methyl-anilino)-3-methyl-2,4(1H, 3H)-pyrimidindion (**6f**): 0.75 g (3 mmol) **5f** werden in 6 ml Dimethylformamid gegeben und unter Eiskühlung mit 0.6 ml (6 mmol) POCl₃ versetzt. **5f** geht dabei sofort in Lösung. Nach 5 min Rühren werden 50 ml Wasser zugesetzt, die Lösung auf pH 5 eingestellt und nach 24 h Kühlen die hellgelben Kristalle gesammelt. Physikal. Daten in **Tab. 4**. ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 3.12 s (3H, 3-CH₃), 3.30 s (3H, Ar-NCH₃), 6.84 d (2H, J = 8Hz, 2- und 6-H), 7.08 d (2H, J = 8Hz, 3- und 5-H), 9.59 s (1H, CHO), 9.50 s (1H, OH), 10.8 s (1H, NH).

Tab. 4: Ausbeuten, Reinigung, analytische Daten und IR-Absorptionen der Verbindungen **5, 6** und **7**

Ver- bin- dung	R ³	R ⁷	R ⁸	Ausb.	Schmp. ° (Umkryst. aus)	Summenformel (Molmasse)	Ber.: Gef.: C H N	IR-Absorption in KBr [cm ⁻¹]
5b	H	H	OH	81 %	332 (H ₂ O/NaOH)	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₃ (233.2)	56.7 4.75 18.0 57.1 4.79 18.2	3400, 3130, 1705, 1635, 1585.
5c	CH ₃	H	OH	82 %	274 (H ₂ O/NaOH)	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₃ (247.4)	58.3 5.30 17.0 57.8 5.33 16.8	3600–3300, 3130, 1695, 1630, 1580, 1510.
5d	CH ₃	CH ₃	OH	74 %	246 (Ethanol)	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃ (261.3)	59.8 5.79 16.1 60.4 6.01 16.3	3260, 3140, 1690, 1625, 1605, 1595.
5e	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	88 %	208 (Ethanol)	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃ (275.3)	61.1 6.22 15.3 61.2 6.30 15.2	3430, 3150, 3120, 1705, 1655, 1650, 1640, 1620. 1595, 1500.
5f	CH ₃	OH	H	93 %	317 (H ₂ O/NaOH)	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₃ (247.3)	58.3 5.30 17.0 59.0 5.38 17.2	3430, 3170, 1685, 1630, 1595, 1515, 1500.
5h	CH ₃	CH ₃	NH ₂	81 %	237 (Ethanol)	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₂ (260.3)	60.0 6.20 21.5 59.8 6.23 21.3	3470, 3370, 3240, 3200, 3150, 1692, 1635, 1620, 1600, 1580, 1500.
5k	CH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂	72 %	147 (Ether)	C ₁₅ H ₂₀ N ₄ O ₂ (288.3)	62.5 6.99 19.4 62.2 6.97 19.6	3400, 3200. 3120, 3100, 1700, 1650, 1640, 1630, 1620, 1600, 1570, 1500.
6f	CH ₃	OH	H	65 %	330 (Zers.) (Ethanol)	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₄ (275.3)	56.7 4.76 15.3 57.0 4.82 14.9	3420, 3160, 3120, 1712, 1655, 1650, 1640, 1630, 1595, 1550, 1510
7b	H	H	OH	80 %	330 (H ₂ O/NaOH)	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₃ (243.2)	59.3 3.73 17.3 59.1 3.70 17.4	3430, 3160, 1696, 1655, 1600, 1570, 1515.
7c	CH ₃	H	OH	71 %	330 (DMF)	C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₃ (257.2)	60.7 4.31 16.3 60.8 4.32 16.4	3440, 3130, 3070, 1690, 1640, 1610, 1580, 1530.
7d	CH ₃	CH ₃	OH	61 % (68 %)	330 (DMF)	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₃ (271.3)	62.0 4.83 15.5 61.3 4.60 15.4	3250, 3110, 3050, 1695, 1650, 1635, 1605, 1580, 1535, 1510.
7e	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	89 %	330 (Eisessig)	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₃ (285.3)	63.2 5.30 14.7 62.9 5.53 14.7	1695, 1645, 1615, 1575, 1525.
7f	CH ₃	OH	H	49 % (73 %)	330 (Ethanol)	C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₃ (257.2)	60.7 4.31 16.3 60.5 4.25 16.3	3420, 3360, 3170, 1690, 1625, 1590, 1570, 1560, 1530, 1510.
7k	CH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂	91 %	325–328 (Methanol)	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₂ (298.3)	64.4 6.08 18.8 64.5 6.07 18.7	1695, 1645, 1600, 1565, 1520.

5-Desazaflavine **7**: Allgemeine Vorschrift

3 mmol **5** werden in 6 ml Dimethylformamid suspendiert und nach Zugabe von 0.6 ml (6 mmol) POCl₃ 30 min bei 20° gerührt und weitere 30 min auf 100° erhitzt. Beim Erkalten der klaren gelben Lösung fällt **7** aus. Nach Zugabe von 50 ml Wasser und Einstellen der Lösung auf pH 3, wird der Niederschlag gesammelt, mit Wasser, Ethanol und Ether gewaschen und aus dem in Tab. 3 angegebenen Lösungsmittel umkristallisiert.

8-Hydroxy-10-methyl-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**7b**),
3,10-Dimethyl-8-hydroxy-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**7c**),
8-Hydroxy-3,7,10-trimethyl-2,4(3H, 10H)-pyrimido-[4,5-b]chinolindion (**7d**),
8-Methoxy-3,7,10-trimethyl-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**7e**),
3,10-Dimethyl-7-hydroxy-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**7f**)

Abweichend von der allgemeinen Vorschrift wird die Reaktionslösung von **5f** in Dimethylformamid und POCl₃ 1 h auf 100° erhitzt. Nach dem oben beschriebenen Aufarbeiten erhält man ein dc (Fließmittel: Chloroform 45/Diisopropylether 45/Ethanol 10) nachweisbares Gemisch von ca. 25 % **6f** und 75 % **7f**, das durch Umkristallisation aus 20 ml Ethanol (Abtrennung des in heißem Ethanol unlöslichen **6f**) gereinigt wird. Ausb.: 61 %.

8-Amino-3,7,10-trimethyl-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**7h**)

Die nach der allgemeinen Vorschrift aufgearbeitete Substanz besteht aus einem Gemisch von **7h** und **i** (dc und ¹H-NMR-spektroskopisch nachweisbar). Hydrolyse des Gemisches in 50 ml 1N-HCl ergibt reines **7h**, dessen analytische Daten mit der nach ¹⁾ dargestellten Substanz identisch sind; Ausb.: 73 %.

8-Dimethylamino-3,7,10-trimethyl-2,4(3H, 10H)-pyrimido[4,5-b]chinolindion (**7k**)

¹H-NMR- und UV/Vis-spektroskopische Daten in Tab. 1. Physikal. Daten in Tab. 4.

Darstellung von **7f** aus **6f**

Die Umsetzung von **6f** (3 mmol) in 5 ml Polyphosphorsäure 6 h bei 100° ergibt nach Verdünnen der Lösung mit 50 ml Wasser eine klare Lösung, aus welcher sich bei pH 3 auch nach längerem Abkühlen keine Kristalle abscheiden. Das UV/Vis-Spektrum der wäßrigen Lösung zeigt Maxima bei 401 und 325 nm, die sich im pH-Bereich 3–13 nicht verändern. Es handelt sich bei dem wasserlöslichen Desazaflavin um den 7-Phosphorsäureester **7g**, der durch 12stdg. Erhitzen der auf pH 1 eingestellten wäßrigen Lösung quantitativ in **7f** überführt wird. Bei pH 3 fällt **7f** aus und wird wie oben angegeben aufgearbeitet; Ausb.: 78 %. – Erhitzt man 3 mmol **6f** in 5 ml konz. H₂SO₄ 30 min auf 60°, verdünnt mit 50 ml Wasser, rührt 30 min bei 20° und arbeitet wie oben angegeben auf, erhält man 87 % **7f**. Die analytischen Daten entsprechen denen der in situ dargestellten Substanz.

Darstellung von **7d** aus **7e**

140 mg (0.5 mmol) **7e** werden in 5 ml 57proz. HI 12 h auf 80° erhitzt. Die klare dunkle Lösung wird auf 50 ml Eis/Wasser gegossen, auf pH 3 eingestellt und die ausgefallenen Kristalle in 0.1

N-NaOH aufgenommen und mit Eisessig ausgefällt. Der braune Niederschlag wird aus 20 ml Dimethylformamid umkristallisiert. Man erhält 95 mg (68 %) gelber Kristalle, deren analytische Daten mit denen des oben dargestellten **7d** identisch sind.

Literatur

- 1 I. Mitt.: R. W. Grauert, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1979**, 1802.
- 2 P. Hemmerich, V. Massey und H. Fenner, *FEBS Lett.* **84**, 5 (1977), und dort zit. Lit.
- 3 L. D. Eirich, G. D. Vogels und R. S. Wolfe, *Biochemistry* **17**, 4583 (1978).
- 4 W. T. Ashton, R. D. Brown, F. Jacobson und C. Walsh, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 4419 (1979).
- 5 S. F. Tzeng, R. S. Wolfe und M. P. Bryant, *J. Bacteriol.* **121**, 154 (1975); S. F. Tzeng, M. P. Bryant und R. S. Wolfe, *J. Bacteriol.* **121**, 192 (1975).
- 6 R. K. Thauer und G. Fuchs, *Naturwissenschaften* **66**, 89 (1979).
- 7 G. Schöllnhammer und P. Hemmerich, *Eur. J. Biochem.* **44**, 561 (1974); S. G. Mayhew, C. D. Whitfield, S. Ghisla und M. Schuman-Jorns, *Eur. J. Biochem.* **44**, 579 (1974).
- 8 S. Ghisla und S. G. Mayhew, *J. Biol. Chem.* **248**, 6568 (1973); S. Ghisla und S. G. Mayhew, *Eur. J. Biochem.* **63**, 373 (1976).
- 9 S. Kasai, R. Miura und K. Matsui, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **18**, 2877 (1975); M. Takatsu, M. Nakano, S. Kasai, R. Miura und K. Matsui, *J. Antibiot.* **27**, 88 (1974); R. Miura, K. Matsui, K. Hirotsu, A. Shimada, M. Takatsu und S. Otani, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1973**, 703.
- 10 K. H. Dudley, A. Ehrenberg, P. Hemmerich und F. Müller, *Helv. Chim. Acta* **47**, 1354 (1964).
- 11 R. Gnehm und T. Scheutz, *J. Prakt. Chem.* **63**, 422 (1901).
- 12 K. Matsui und S. Kasai in "Flavins & Flavoproteins", Ed. T. P. Singer, S. 328, Elsevier, Amsterdam 1976.
- 13 R. M. Cresswell und H. C. S. Wood, *J. Chem. Soc.* **1960**, 4768.
- 14 G. Nübel und W. Pfeleiderer, *Chem. Ber.* **95**, 1605 (1962).
- 15 F. Yoneda und M. Ichiba, *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 1832 (1972).

[Ph 219]