

115. Über Pterinchemie

36. Mitteilung [1]

Herstellung von 6-Aminomethyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin und Mechanismus seiner Oxydation unter physiologischen Bedingungen

von M. Viscontini und M. Cogoli-Greuter

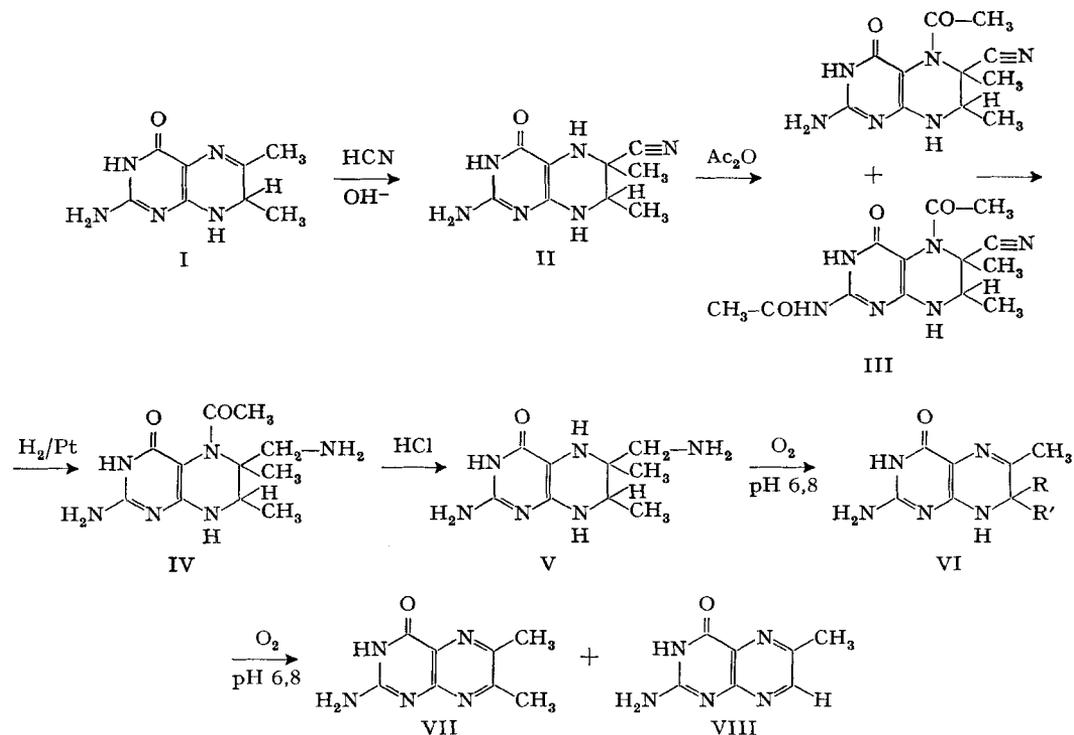
Organisch-Chemisches Institut der Universität CH-8001 Zürich, Rämistrasse 76

(2. IV. 70)

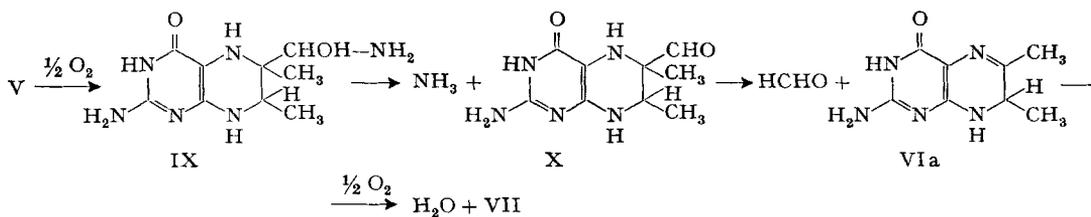
Zusammenfassung. Zur Herstellung von 6-Aminomethyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin wurde das durch Blausäureaddition an 6,7-Dimethyl-7,8-dihydropterin entstandene 6-Cyano-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin acetyliert, reduziert und anschliessend desacetyliert. Wie das 6-Aminomethyl-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin bildet das 6,7-Dimethylhomologe während seiner Oxydation mit Luftsauerstoff unter physiologischen Bedingungen kein Parachinoid-dihydropterin. Nach der vollständigen Oxydation wurde neben dem erwarteten 6,7-Dimethylpterin auch 6-Methylpterin isoliert. Der Mechanismus der 6-Methylpterin-Bildung wird diskutiert.

Wir beschreiben in dieser Mitteilung die Synthese des in der 33. vorläufigen Mitteilung [2] erwähnten 6-Aminomethyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterins (V). Es wurde unter ähnlichen Bedingungen hergestellt, wie das entsprechende 6-Methyl-Derivat [1]. Blausäure wurde an 6,7-Dimethyl-7,8-dihydropterin (I) in basischer Lösung addiert. Beim Neutralisieren fiel weisses 6-Cyano-6,7-dimethyl-tetrahydropterin (II) aus. Das sehr unbeständige Produkt II wurde durch Acetylieren an N(5) mit Essigsäureanhydrid in Dimethylformamid stabilisiert. Dabei fiel eine Mischung III von N(5)-Acetyl-tetrahydropterin und N(2'),N(5)-Diacetyl-tetrahydropterin aus, die zu Tetrahydropterin IV reduziert und zu V desacetyliert wurde.

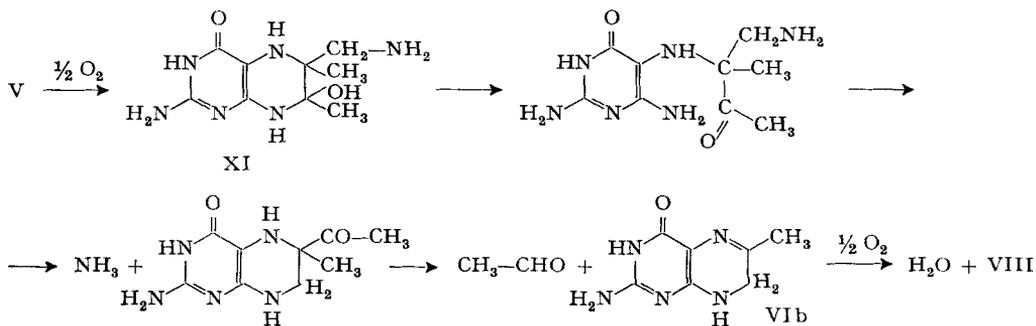
In 0.15M Phosphatpuffer bei pH 6,8 in Gegenwart von Luftsauerstoff oxydiert, gibt das Tetrahydropterin V zunächst innerhalb von 3 Stunden Produkte mit UV.-Spektren von 7,8-Dihydropterenen (VI) (Fig.1) und nachher einen gelben Niederschlag. Papierchromatographie und NMR.-Messungen bewiesen, dass dieser Niederschlag aus einer Mischung von 6,7-Dimethylpterin (VII) und 6-Methylpterin (VIII) bestand. Unter der Voraussetzung, dass die Aminomethylkette, wie im Falle der 6-Aminomethyl-tetrahydropterin-Oxydation, unter Bildung von Formaldehyd und Ammoniak oxydiert wird [1] [3], wäre nach der vollständigen Oxydation von V nur 6,7-Dimethylpterin (VII) zu erwarten. Um einen besseren Einblick in den Mechanismus dieser Oxydation zu erhalten, wurde die Reaktion auf der Dihydrostufe VI, durch Ansäuren abgebrochen. NMR.-Messungen (Fig.4) zeigten, dass die beim Einengen entstandene gelbe Fällung 6,7-Dimethyl-7,8-dihydropterin (VIa = VI mit R = CH₃, R' = H), 6-Methyl-7,8-dihydropterin (VIb = VI mit R = R' = H) und die beiden entsprechenden, vollständig oxydierten Pterine VII und VIII enthielt. Das unerwartete Entstehen von 6-Methyl-7,8-dihydropterin (VIb) und 6-Methylpterin (VIII) kann folgendermassen erklärt werden:



Neben der direkten Oxydation der Seitenkette:



verläuft eine weitere Oxydation des Pyrazinkernes am C(7), auf die eine cyclische Umlagerung folgt:



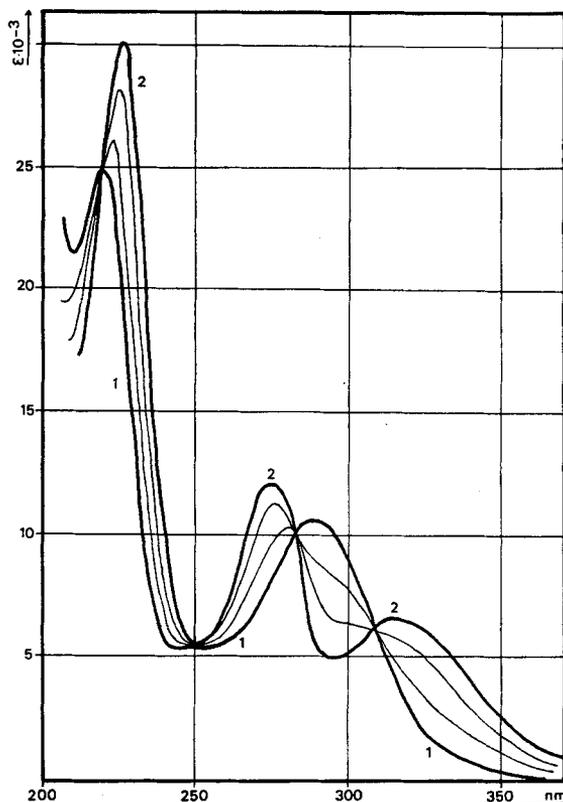


Fig. 1. Luftoxydation von Tetrahydropterin V in wässriger Lösung, pH 6,8

Kurve 1: Frische Lösung (Tetrahydropterin V); Kurve 2: Nach 3 Stunden (Mischung VIa + VIb).
Es sind in Zeitabständen von einer Stunde aufgenommene UV.-Spektren eingezeichnet

Die Hypothese einer direkten Oxydation der C(7)-Methylgruppe von VIa oder von einem OH-Radikal-Angriff am C(4a) wird durch keine experimentellen Ergebnisse gestützt und kommt nicht in Betracht.

Unsere neuen Resultate stehen jedoch im Widerspruch mit unserer kürzlich vorgeschlagenen Hydroxylierungstheorie [4], nach welcher der OH-Angriff am C(1a) stattfinden sollte. Diese Diskrepanz bedarf einer Abklärung. Wir setzen unsere Forschungen in dieser Richtung fort.

Wir danken Herrn Prof. Dr. W. v. Philipsborn und seinen Mitarbeitern für die Aufnahme der NMR.-Spektren und Herrn H. Frohofer, Leiter unserer mikroanalytischen Abteilung, für die Ausführung der Elementaranalysen.

Experimentelles. – 6-Cyano-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin (II). 0,3 g (1,33 mMol) I-Hydrochlorid [5] wurden unter Stickstoff in 30 ml sauerstofffreiem 0,1 N NaOH gelöst. Die schwach gelbe Lösung wurde mit 6 g KCN versetzt, worauf das Reaktionsgefäß verschlossen wurde. Nach 5 Std. wurde die nun farblose Lösung mit Eiswasser gekühlt und mit sauerstofffreiem Eisessig auf pH 6,5 gebracht, wobei II als farblose Substanz ausfiel. Nach 15 Std. Stehen bei 0° wurde II unter Stickstoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und während 6 Std. getrocknet (0,1 Torr/25°). Ausbeute: 0,241 g (84% d.Th.). UV.-Spektren (ähneln jenen des entsprechenden 6-Monomethyl-

derivates [1]): in 0,1 N HCl: λ_{\max} 297 nm ($\epsilon = 10,6 \cdot 10^3$), λ_{\min} 235 nm ($\epsilon = 4,01 \cdot 10^3$); in Phosphatpuffer, pH 6,8: λ_{\max} 280 nm ($\epsilon = 7,35 \cdot 10^3$), λ_{\min} 261 nm ($\epsilon = 5,05 \cdot 10^3$); in 0,1 N NaOH: λ_{\max} 298 nm ($\epsilon = 9,02 \cdot 10^3$), λ_{\min} 244 nm ($\epsilon = 5,0 \cdot 10^3$).

$C_9H_{12}N_6O \cdot H_2O$ (238,26) Ber. C 45,4 H 5,93 N 35,3% Gef. C 44,57 H 6,28 N 34,9%

Gemisch von 2',5-Diacetyl- und 5-Acetyl-6-cyano-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin (III). 0,145 g (0,6 mMol) II wurden unter Stickstoff in einer mit N_2 gespülten Mischung von 36 ml Essigsäureanhydrid, 4 ml Dimethylformamid und 1 ml Dibutylphthalat gelöst. Die trübe Suspension wurde abzentrifugiert und die klare überstehende Lösung unter N_2 in einem verschlossenen Kolben 7 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Dabei bildete sich eine farblose Fällung. Nach 15 Std. Stehen bei 0° wurde der Niederschlag abzentrifugiert, 3mal mit Essigsäureanhydrid und 5mal mit Äther gewaschen und über P_2O_5 getrocknet (12 Torr, 20°). Ausbeute: 0,138 g (~80%) einer, wie durch Analysen und Spektren bewiesen wurde, Mischung von Monoacetyl- und Diacetyl-tetrahydropterin.

Monoacetyl-Derivat:	$C_{11}H_{14}N_6O_2$ (262,28)	Ber. C 50,40	H 5,38	N 32,05%
Diacetyl-Derivat:	$C_{13}H_{16}N_6O_3$ (304,33)	„ „ 51,30	„ 5,29	„ 27,60%
		Gef. „ 50,67	„ 5,78	„ 29,43%

UV.-Spektren (ähneln jenen des entsprechenden 6-Monomethylderivates [1]): in 0,1 N HCl: λ_{\max} 286 nm ($\epsilon = 9,15 \cdot 10^3$), λ_{\min} 254 nm ($\epsilon = 3,8 \cdot 10^3$); in Phosphatpuffer, pH 7,0: λ_{\max} 228 nm ($\epsilon = 30,95 \cdot 10^3$), 284 nm ($\epsilon = 10,5 \cdot 10^3$), λ_{\min} 252 nm ($\epsilon = 4,25 \cdot 10^3$); in 0,1 N NaOH: λ_{\max} 282 nm ($\epsilon = 9,3 \cdot 10^3$), λ_{\min} 253 nm ($\epsilon = 6,4 \cdot 10^3$). Signale¹⁾ im NMR.-Spektrum (CF_3COOH): C(7)- CH_3 : *D*, 1,65 ppm; C(6)- CH_3 : *S*, 1,85 ppm; N(2')-CO- CH_3 : *S*, 2,28 ppm; N(5)-CO- CH_3 : *S*, 2,51 ppm; C(7)H: *Q*, 3,75 ppm. Aus der Integration der N-Acetyl-signale ging hervor, dass Mono- und Diacetyl-Verbindung im Verhältnis 3:2 vorhanden waren.

5-Acetyl-6-aminomethyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin-hydrochlorid (IV·HCl). 0,2 g (~0,7 mMol) der Mischung III wurden in einer Lösung von 160 ml Eisessig und 1 ml 12 N HCl mit 0,35 g PtO_2 und gereinigtem H_2 (760 Torr, 22°) hydriert. Nach 18 Std. waren 2 Mol-Äq. H_2 aufgenommen worden. Die von Pt abfiltrierte Lösung wurde auf 5 ml cingeengt (Vakuum). Das Produkt IV wurde durch Ätherzugabe ausgefällt, abzentrifugiert und mit Äther gewaschen. Die noch mit NH_4Cl verunreinigte Substanz wurde 3mal in 3,5 ml sauerstofffreiem Methanol suspendiert und je 24 Std. unter N_2 gerührt. Anschliessend wurde das Produkt abzentrifugiert, 3mal mit Äther gewaschen und über P_2O_5 getrocknet (12 Torr/20°): 0,122 g (57%) IV·HCl. UV.-Spektren (ähneln jenen des entsprechenden 6-Monomethylderivates [1]): in 0,1 N HCl: λ_{\max} 229 nm ($\epsilon = 26,82 \cdot 10^3$), 286 nm ($\epsilon = 7,9 \cdot 10^3$), λ_{\min} 252 nm ($\epsilon = 2,28 \cdot 10^3$); in Phosphatpuffer, pH 6,8: λ_{\max} 228 nm ($\epsilon = 26,5 \cdot 10^3$), 286 nm ($\epsilon = 9,41 \cdot 10^3$), λ_{\min} 251 nm ($\epsilon = 2,2 \cdot 10^3$); in 0,1 N NaOH: λ_{\max} 287 nm ($\epsilon = 11,84 \cdot 10^3$), λ_{\min} 252 nm ($\epsilon = 4,3 \cdot 10^3$). NMR.-Spektrum (CF_3COOH): C(7)- CH_3 : *D*, 1,66 ppm, 3 Pr; C(6)- CH_3 : *S*, 1,85 ppm, 3 Pr; N(5)-CO- CH_3 : *S*, 2,52 ppm, 3 Pr; C(6)- CH_2 —: *br. S*, 3,4 ppm, 2 Pr; C(7)-H: *Q*, 3,75 ppm, 1 Pr.

$C_{11}H_{18}N_6O_2 \cdot HCl$	Ber. C 43,7	H 5,99	N 27,7	Cl 11,72%
(302,78)	Gef. „ 43,62	„ 6,40	„ 26,72	„ 11,88%

6-Aminomethyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin-trihydrochlorid (V·3HCl). 0,052 g (0,17 mMol) IV·3HCl wurden unter N_2 in 3 ml absolutem Methanol suspendiert. Nun wurden 6 ml 9,7 N sauerstofffreies methanolisches HCl zugegeben, wobei IV·HCl in Lösung ging. V·3HCl begann nach $1/2$ Std. auszufallen. Nach 1 Std. Stehenlassen wurde die Mischung in Eiswasser gekühlt, der Niederschlag abzentrifugiert, mit Äther gewaschen und über P_2O_5 getrocknet (12 Torr/23°). Ausbeute: 0,048 g (84%). UV.-Spektren (ähneln jenen des entsprechenden 6-Monomethylderivates [1], mit Ausnahme des λ_{\max} 264 in 0,1 N HCl): in 0,1 N HCl: λ_{\max} 291 nm ($\epsilon = 11,44 \cdot 10^3$), λ_{\min} 238 nm ($\epsilon = 3,57 \cdot 10^3$); in Phosphatpuffer, pH 6,8: λ_{\max} 218 nm ($\epsilon = 25,0 \cdot 10^3$), 290 nm ($\epsilon = 10,8 \cdot 10^3$); λ_{\min} 245 nm ($\epsilon = 5,33 \cdot 10^3$); in 0,1 N NaOH: λ_{\max} 291 nm ($\epsilon = 11,8 \cdot 10^3$), λ_{\min} 242 nm ($\epsilon = 8,5 \cdot 10^3$). NMR.-Spektrum (Hexadeuteriodimethylsulfoxid): C(7)- CH_3 : *D*, 1,22 ppm, 3 Pr; C(6)- CH_3 : *S*, 1,42 ppm, 3 Pr; C(6)- CH_2 —: *br. S*, 3,02 ppm, 2 Pr; C(7)-H: *Q*, 3,62 ppm, 1 Pr; C(6)-C(H_2)- NH_2 , C(2)- NH_2 , N(3)-H, N(5)-H, N(8)-H, 3 HCl: *br. Signal*, 8–9 ppm.

$C_9H_{16}N_6O \cdot 3HCl$	Ber. C 32,44	H 5,74	Cl 31,9	N 25,2%
(333,67)	Gef. „ 32,68	„ 6,02	„ 31,01	„ 25,52%

¹⁾ *S*: Singulett; *D*: Dublett; *T*: Triplett; *M*: Multipllett; *br.*: breit; *Pr*: Proton(en).

Luftoxydation von 6-Aminomethyl-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin unter physiologischen Bedingungen. 0,263 mg V · 3HCl wurden in 25 ml 0,15 M Kaliumphosphat-Pufferlösung, pH 6,8, gelöst. Die UV.-Spektren wurden alle 15 Min. gemessen. Nach 3 Std. lagen in der Lösung substituierte 7,8-Dihydropterine (VI) (Fig. 1), nach 2 Tagen eine Mischung von VII und VIII vor.

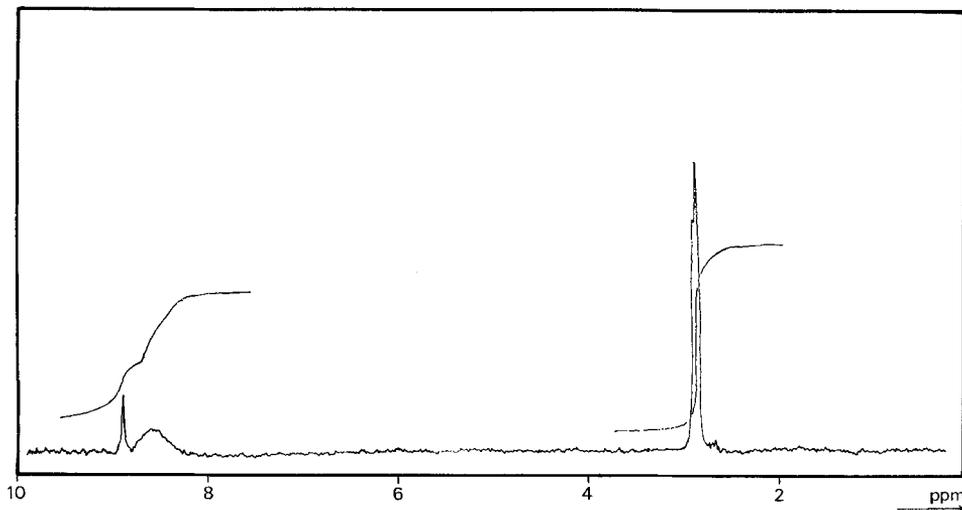


Fig. 2. NMR.-Spektrum (CF_3COOH) der nach vollständiger Luftoxydation erhaltenen Mischung VII und VIII

Erklärungen s. exper. Teil

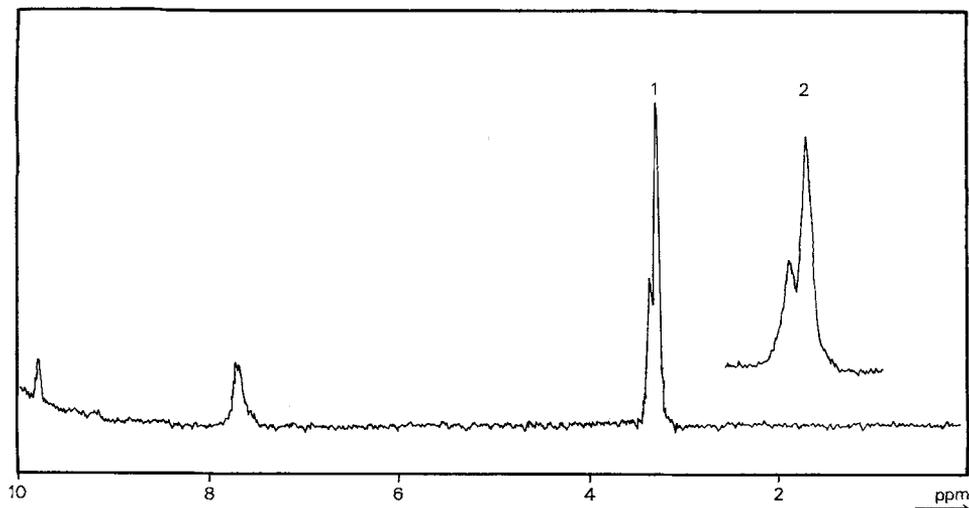


Fig. 3. NMR.-Spektrum (Fluorsulfonsäure) der nach vollständiger Luftoxydation erhaltenen Mischung VII und VIII

Es sind deutlich zu unterscheiden VII [$\text{C}(6)\text{—CH}_3$ und $\text{C}(7)\text{—CH}_3$: S, 3,31 ppm] und VIII [$\text{C}(6)\text{—CH}_3$: S, 3,34 ppm; $\text{C}(7)\text{—H}$: S, 9,79 ppm]. Kurve 1: Normales Spektrum; Kurve 2: 3,31–3,35 ppm-Signale 4fach gedehnt

Identifizierung der 6-Methyl- und 6,7-Dimethylpterine (VII und VIII) als Oxydationsprodukte von V. 55 mg V · 3HCl wurden in 15 ml 0,15 M Kaliumphosphatpuffer, pH 6,8, gelöst und in einem offenen *Erlenmeyer*-Kolben gerührt. Dabei bildete sich langsam eine gelbe Fällung. Nach zwei Tagen wurde der Niederschlag abzentrifugiert, mit Äthanol und Äther gewaschen und über P₂O₅ getrocknet. Ausbeute: 30 mg. Die Papierchromatographie mit den üblichen Lösungsmitteln zeigte 2 Produkte mit Rf-Werten, welche mit jenen von authentischen VII und VIII übereinstimmten. Um Auskunft über die Zusammensetzung der Mischung zu erhalten, wurden NMR.-Spektren in CF₃COOH (Fig. 2) und Fluorsulfonsäure (Fig. 3) aufgenommen. Zwei C—CH₃-Signale (Trifluoressigsäure) erschienen eindeutig bei 2,86 ppm und 2,88 ppm und ein C-Vinylproton-Singulett bei 8,9 ppm. Dies bedeutet, dass ein Monomethylpterin entstanden ist, aber entscheidet kaum zwischen dem 6- oder dem 7-Methylpterin (vgl. die Daten der entsprechenden Signale in [6]). Der Beweis konnte jedoch mit dem NMR.-Spektrum in Fluorsulfonsäure erbracht werden, wo man eindeutig die C(6)—CH₃ und C(7)—CH₃ Singulette von VII bei 3,31 ppm und das C(6)—CH₃ Singulett von VIII bei 3,35 ppm, sowie das C(7)—H Singulett von VIII bei 9,80 ppm beobachten konnte. Ein C(6)—H Singulett von 7-Methylpterin wäre in diesem Lösungsmittel bei 9,18 ppm erschienen [6]. Die Integration zeigte, dass VII und VIII ungefähr im Verhältnis 1 : 1 in der Mischung vorliegen.

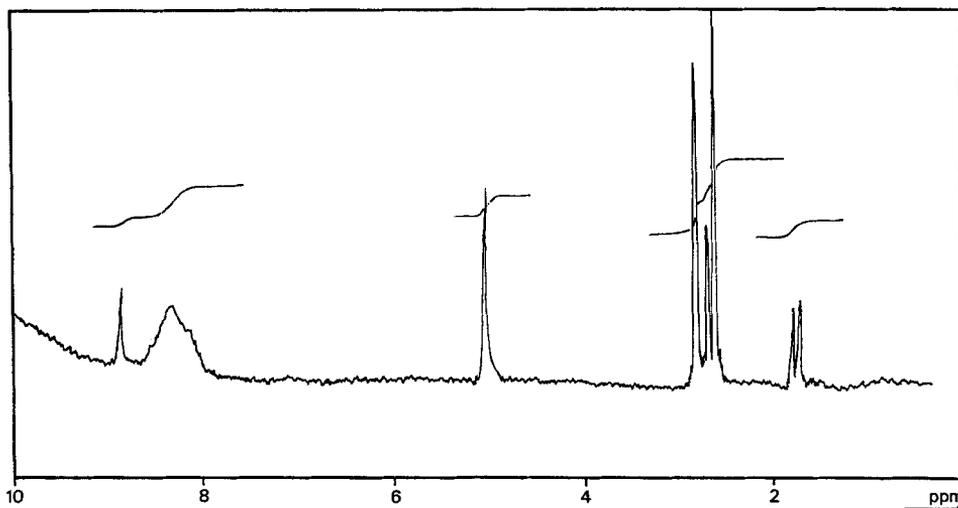


Fig. 4. NMR.-Spektrum (CF₃COOH) der nach 3stündiger Luftyoxidation erhaltenen Mischung von VIa, VIb, VII und VIII
Erklärungen s. exper. Teil

Identifizierung der Dihydroprodukte VI. 50 mg Produkt V · 3HCl wurden in 50 ml 0,15 M Kaliumphosphatpuffer, pH 6,8, gelöst und in einem offenen *Erlenmeyer*-Kolben gerührt. Nach 3 Std. wurden zum Abbruch der Oxydation einige Tropfen 10 N HCl zugegeben. Beim Einengen der Lösung entstand eine gelbe Fällung. Diese wurde abzentrifugiert und über P₂O₅ getrocknet. Ausbeute: 15 mg. Das NMR.-Spektrum dieses Produktes in CF₃COOH (Fig. 4) zeigte die für das 6,7-Dimethyl-7,8-dihydropterin (VIa) bekannten Signale: ein Singulett bei 2,72 ppm für die C(6)—CH₃-Gruppe und ein Dublett für die C(7)—CH₃-Protonen bei 1,77 ppm. Dass in der Fällung auch schon die beiden vollständig oxydierten Pterine VII und VIII vorhanden waren, zeigten das Signal bei 2,85 ppm für die C(6)—CH₃ und C(7)—CH₃-Protonen der Dimethylverbindung VIII und die C(6)—CH₃-Protonen des Monomethylpterins VII, sowie das C(7)-Vinylproton Singulett bei 8,88 ppm. Daneben wies das Spektrum noch zwei weitere Singulette auf, eines bei 2,63 ppm, das andere bei 5,04 ppm. Durch Vergleiche mit schon bekannten Spektren wurde festgestellt, dass diese Signale durch die Protonen von 6-Methyl-7,8-dihydropterin (VIb) verursacht werden, wobei das Singulett bei 2,63 ppm der C(6)—CH₃-Gruppe entspricht, während das Singulett bei 5,04 ppm den C(7)-Methylenprotonen zugeordnet werden kann.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 35. Mitteilung: *M. Viscontini, M. Frater-Schroeder & M. Argentini*, *Helv.* 54, 811 (1971).
 [2] *M. Viscontini, M. Frater-Schroeder, M. Cogoli-Greuter & M. Argentini*, *Helv.* 53, 1434 (1970).
 [3] *M. Viscontini, M. Argentini*, *Liebigs Ann. Chem.* 745 (1971) (im Druck).
 [4] *M. Viscontini & T. Okada*, *Helv.* 50, 1492, 1845 (1967); *M. Viscontini*, *Fortschr. chem. Forsch.* 9, 605 (1968).
 [5] *H. J. X. Mager, R. Addink & W. Berends*, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* 86, 833 (1967).
 [6] *A. Diefenbacher & W. von Philipsborn*, *Helv.* 52, 743 (1969).

116. C-Glycosides VI¹⁾. Modalités de l'élaboration de cycles pyrazoliques à partir d'une hydrazone d'aldéhydo-sucré

par **J. M. J. Tronchet** et **A. Jotterand**²⁾

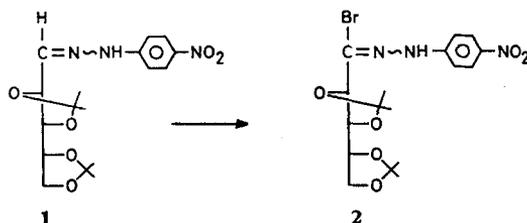
Institut de Chimie Pharmaceutique de l'Université, 10, Boulevard d'Yvoy – 1205 Genève

(2 IV 71)

Summary. The reaction of an *aldehydo*-sugar hydrazoneyl bromide with ethynylmagnesium bromide led mainly to an α -ethynyl-hydrazone whose cyclisation to a pyrazole is catalysed by bases. Thus the nucleophilic substitution – nucleophilic cyclisation mechanism of the *Grünanger* pyrazole synthesis is confirmed. 3-Glycosyl-pyrazoles can also be prepared from *aldehydo*-sugar hydrazoneyl bromides by 1, 3-dipolar cyclo-addition. All these reactions take place without change in the configuration of the initial *aldehydo*-sugar.

Les résultats que nous rapportons ci-dessous ont fait l'objet de communications préliminaires [3], et d'autres publications du Laboratoire [1] [4] [5] traitent de sujets voisins.

La bromation (Br₂, AcOH) d'une série d'arylhydrazones du di-O-isopropylidène-2,3:4,5-aldéhydo-D-arabinose a montré que celui de ces produits qui conduisait le plus facilement à un bromure d'hydrazoneyle était la *p*-nitrophénylhydrazone **1** à partir de laquelle on obtient avec un bon rendement le bromure d'hydrazoneyle **2**. Ces bromures d'hydrazoneyle (ou hydrazones de bromures d'acyle) constituent de nouveaux intermédiaires de synthèse en chimie des sucres, et nous allons étudier ci-dessous quelques-unes de leurs propriétés et de leurs utilisations synthétiques.



- 1) La référence [1] constitue la cinquième communication de cette série, dont une désignation plus correcte serait: Dérivés C-glycosyliques.
 2) La matière de cette communication constitue une partie de la thèse de Doctorat ès Sciences de *M. A. Jotterand* [2].