Liebigs Ann. Chem. 1984, 273-282

ara-7-Desazaxanthosin – ein Xanthin-Nucleosid mit stabiler N-glycosylischer Bindung

Frank Seela * und Ulrich Liman

Fachbereich 13 – Organische Chemie, Universität Paderborn, Warburger Straße 100, D-4790 Paderborn

Eingegangen am 21. Juni 1983

ara-7-Desazaxanthosin (2) wurde durch Phasentransferglycosylierung von 2,4-Dimethoxy-7*H*pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (5b) mit der Halogenose 6 dargestellt. Von dem bei der Glycosylierung bevorzugt gebildeten β -Anomer 8 wurden die Benzylschutzgruppen mit Bortrichlorid entfernt und die 2,4-Dimethoxyreste mit Säure abgespalten. Das 7-Desazapurin-Nucleosid 2 besitzt im Gegensatz zu Xanthosin (1a) eine bei saurer Hydrolyse stabile N-glycosylische Bindung. Durch Vergleich kinetischer Parameter von Purin-Nucleosiden mit denen von 2 wird ein Reaktionsmechanismus der protonenkatalysierten Hydrolyse beschrieben, der auch die Stabilität des Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleosids 2 erklärt.

ara-7-Deazaxanthosine - A Xanthine Nucleoside with a Stabile N-Glycosylic Bond

ara-7-deazaxanthosine (2) has been synthesized via phase-transfer glycosylation from 2,4-dimethoxy-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine (5b) and the halogenose 6. The main product of glycosylation was the β anomer 8. Therefrom the benzyl protecting groups have been removed with boron trichloride, and the 2,4-dimethoxy residues have been cleaved with acid. In contrast to xanthosine (1a) the 7-deazapurine nucleoside 2 exhibits a stable N-glycosylic bond in acidic hydrolyses. By comparison of the kinetic data of purine nucleosides with those of compound 2 a reaction mechanism of proton-catalyzed hydrolysis is suggested which explains the stability of the pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine nucleoside 2.

Xanthosin¹⁾ (**1a**) wie auch seine Nucleobase Xanthin²⁾ (**11**) sind Schlüsselmoleküle im Purinstoffwechsel³⁾. Über Xanthosin-5'-monophosphat kann so GMP gebildet werden. Xanthin hingegen kann mittels Xanthinoxidase⁴⁾ weiter zu Harnsäure oxidiert werden. Bei Enzymdefekten kann es zu einer Überproduktion von Harnsäure kommen, die sich u. a. in den Gelenken ablagert und zum Erscheinungsbild der Gicht führt. In diesem Zusammenhang sind Inhibitoren der Xanthinoxidase^{5,6)} interessant, von denen Allopurinol⁷⁾ als Suicid-Inhibitor⁸⁾ einen der wirksamsten darstellt.

Xanthosin ist in neutraler wässeriger Lösung stabil, im Sauren hingegen erleidet es relativ schnell Hydrolyse an seiner N-glycosylischen Bindung⁹). Mit dem Antibiotikum-Derivat Oxoformycin B¹⁰) wurde nun erstmals ein Xanthosinderivat erhalten, das aufgrund seiner C-glycosylischen Bindung säurestabil ist. Da Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-Nucleoside¹¹) wie Tubercidin¹²) oder 7-Desazaguanosin¹³) ebenfalls nicht oder nur sehr schwer durch Säuren hydrolysiert werden, haben wir die Synthese bisher unbekannter 7-Desazaxanthin-Nucleoside in Angriff genommen. Im folgenden beschreiben wir die Synthese von ara-7-Desazaxanthosin (2) und untersuchen dessen Stabilität in saurer Lösung im Vergleich zu Xanthosin (1a).

Darstellung von ara-7-Desazaxanthosin (2)

Aufgrund der Hydrolyselabilität von Xanthosin (1a) konnte dieses¹⁴⁾ wie auch sein D-Arabinofuranosylderivat 1b¹⁵⁾ totalsynthetisch nicht durch konvergierende Synthese über sein Aglycon und eine geeignete Halogenose gewonnen werden. Vielmehr erfolgt die Darstellung durch schrittweisen Aufbau der heteroeyclischen Base an der geschützten Furanose. Da jedoch Pyrrolo[2,3-*a*]pyrimidin-Nucleoside wesentlich stabiler als Purin-Nucleoside sind, beabsichtigten wir, *ara*-7-Desazaxanthosin (2) durch Glycosylierung von **5b** mit der Halogenose **6** darzustellen.

Eine direkte O-Methylierung von 3¹⁶⁾ war wegen seiner Nucleophilie an N-1 und N-3, die auch bei anderen 7-Desazapurinen beobachtet wird¹⁷⁾, nicht möglich. Wir haben deshalb eine Methoxygruppe bei der Kondensation, die andere durch Halogen/ Methoxidaustausch eingeführt.



Kondensiert man 2-Cyan-4,4-diethoxybuttersäure-ethylester¹⁶⁾ mit O-Methyluroniumsulfat unter Basenkatalyse so erhält man 6-Amino-5-(2,2-diethoxyethyl)-2-methoxy-4*H*-pyrimidin-4-on. Diese Verbindung, als Zwischenprodukt chromatographisch nachgewiesen (Kieselgel; CHCl₃/CH₃OH, 9:1), wurde nicht isoliert, sondern säureka-

talytisch zu 4 cyclisiert. Die Einführung der zweiten Methoxygruppe erfolgte über die 4-Chlorverbindung 5a. Zu deren Darstellung wurde 4 mit Phosphorylchlorid/N,N-Dimethylanilin chloriert und nach Verdampfen überschüssigen Phosphorylchlorids der Reaktionsansatz hydrolysiert und bis pH = 2 abgestumpft. Dadurch konnte das Amin in Lösung gehalten werden, während 5a auskristallisierte. Durch nucleophile Substitution des 4-Halogensubstituenten in 5a mit Natriummethanolat ließ sich schließlich 2,4-Dimethoxy-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (5b) in guter Ausbeute erhalten.

Beim Vergleich der UV-Spektren von 3 und 5b fällt auf (Tab. 1), daß sich das Spektrum von 3 in Abhängigkeit vom pH-Wert stark ändert, während das von 5b im wesentlichen unverändert bleibt. Eine Deprotonierung von 5b erfolgt unter diesen Bedingungen nicht, sie läßt sich erst oberhalb von pH = 14 und dann am Pyrrolring erreichen. Damit ist eine günstige Voraussetzung für eine regioselektive Glycosylierung in Position 7 geschaffen.

	Puffer ^{a)} (pH = 7.0)	λ _{max} [nm] 0.1 N HCl	0.1 N NaOH	pK _a (Aglycon)	
	247, 276	260	248, 276	5.7, 1.8 ³³⁾	
11	267	260	240, 277	7.5	
2	251, 283	240, 275	253, 286	7.0 ^{b)}	
3	242, 275	236, 273	248, 285	7.5 ^{c)}	
4	252, 266 (Sch)	252, 266 (Sch)	255		
5b	258, 271	258, 271	258, 271	-	
9	259, 271	259, 271	259, 271	-	

Tab.1. UV-spektroskopische Daten und pK_{a} -Werte von Xanthosin und 7-Desazaxanthinderivaten

^{a)} 0.1 M Phosphatpuffer. - ^{b)} Bei 253 nm und ^{c)} bei 250 nm in Teorell-Stenhagen-Puffer³⁴⁾ bestimmt.

Für die Synthese von 2 ist die möglichst verlustlose Umwandlung des Chromophors 5b in das Aglycon 3 eine wichtige Voraussetzung. Sie muß unter Bedingungen erfolgen, unter denen das Nucleosid 2 an der N-glycosylischen Bindung intakt bleibt.

Durch 30min. Erhitzen von **5b** in Dioxan/konz. Salzsäure (10:1) wird in einem schrittweisen Prozeß zuerst nur die 4-Methoxygruppe gespalten. Im Chromatogramm (Kieselgel; $CHCl_3/CH_3OH$, 95:5) wird eine Substanz nachgewiesen, die mit 4 identisch ist. Fortschreitende Hydrolyse wandelt 4 dann vollständig in 3 um.

Die Glycosylierung von **5b** im Zweiphasensystem Dichlormethan/50proz. Natronlauge mit der Halogenose **6** in Gegenwart von Benzyltriethylammoniumchlorid als Katalysator führt zu den anomeren Glycosylierungsprodukten **7** und **8**, die nach Chromatographie in 69% (β -Anomer) und 17% (α -Anomer) analysenrein anfallen. Die Ausbeute des Nebenproduktes erhöht sich, wenn die Katalysatormenge gesteigert wird, ein Befund, den wir auf das intermediäre Äquilibrieren der Halogenose **6** zurückführen und den wir schon bei anderen Phasentransferglycosylierungen beobachtet haben¹⁸).

Die konfigurative Zuordnung der Anomeren erfolgt durch ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie. Wie bereits gezeigt, sind die 1'-H-Signale β -anomerer D-Arabinofuranosylpyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleoside im Vergleich zu den α -Verbindungen

C_2 C_4 C_{43} C_{23} C_{24} C_{23} C_{29} C_{24} C_{23} C_{29} C_{24} C_{23} C_{29} C_{24} C_{23} S_{29} $S_{$	C-2 C-4 C-4a C-5 C-6 C-7a C-1' C-2' C-3' C-4' C-5' CH	a C-5 C-6 C-7a C-1' C-2' C-4' C-5' CH ₃ C 7 101.9 118.7 139.4 85.6 76.4 74.3 82.8 59.9 6 102.9 116.5 138.9 85.6 76.4 74.3 82.8 59.9 5 101.9 118.3 148.1 54.2 54.2 54.2 9 98.8 126.1 151.4 54.2 54.2 6 97.7 122.4 154.4 53.6 53.6 3 99.0 122.8 152.6 87.5 82.6 83.2 69.7 53.5 9 98.4 124.0 153.1 83.5 75.9 75.6 83.2 61.1 53.5 6 97.4 124.6 153.1 83.5 75.9 75.6 83.2 61.1 53.5
---	---	---

,

vanthinderivaten in [D 1DMSO 7 Doco Tak 2 13C-NMD-Verschiehungen (S-Werte relativ zu TMS) von tieffeldverschoben¹⁸⁾. Da das langsamer wandernde Hauptprodukt aus der Glycosylierung von **5b** ein 1'-H-Signal bei $\delta = 6.68$ und das Nebenprodukt eines bei $\delta = 6.45$ aufweist, besitzt ersteres β - und letzteres α -Konfiguration. Die ¹H-NMRspektroskopischen Befunde der Anomerenzuordnung werden durch die ¹³C-Spektren (Tab. 2) gestützt, denn das β -Anomer **8** besitzt mit $\delta = 82.8$ ein C-1'-Signal, das ähnlich wie das von β -ara-Tubercidin ($\delta = 83.2$)¹⁹ liegt, während das entsprechende Signal des α -Anomeren **7** bei $\delta = 87.5$ (α -ara-Tubercidin, $\delta = 88.0$)¹⁹ gefunden wird.

Nach Trennung der Anomeren 7 und 8 wurden alle Folgeschritte ausschließlich mit dem β -Anomeren 8 durchgeführt. So ergab Debenzylierung von 8 mit Bortrichlorid in Dichlormethan das kristalline 2,4-Dimethoxynucleosid 9 in 76proz. Ausbeute. Bei diesem wurde die Glycosylierungsposition mittels ¹³C-NMR festgelegt.

Wie bereits bei anderen Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-Nucleosiden gezeigt, weisen N-Heterocyclen im ¹³C-NMR-Spektrum CH-Kopplungen über den Stickstoff hinaus bis zur Entfernung von drei Atomen auf²⁰⁾. Damit wird auch das Anomerenproton in das Kopplungsmuster einbezogen, wodurch die Position des glycosylischen Restes am Heterocyclus bestimmbar wird. So wird das C-6-Signal von 9, das mit 6-H (191 Hz) und 5-H (9 Hz) koppelt, zusätzlich aufgespalten. Diese Kopplung, die 5 Hz beträgt, erfolgt durch das Anomerenproton, C-5 weist nur Kopplungen von 178 und 9 Hz auf. Umgekehrt werden die C-2 oder C-4-Methoxygruppen nur zu Quadrupletts aufgespalten (4 Hz). Damit befindet sich der glycosylische Rest von 9 an N-7.

Im letzten Syntheseschritt galt es, die Methylether von 9 zu spalten. Um Anomerisierung zu vermeiden, hatten wir bei einer ähnlichen Vorstufe mit 4-Methoxy-/2-Aminosubstitution statt wässeriger Säure Natriumthiokresolat in HMPT verwendet²¹⁾. Alle Versuche, beide Methylgruppen von 9 auf diesem Weg abzuspalten, schlugen hier jedoch fehl. Dagegen ergab die Hydrolyse von 9 in HCl/Dioxan gemäß UV-Spektren quantitativ *ara*-7-Desazaxanthosin (2). Schwierigkeiten traten jedoch bei der Isolierung von 2 auf.

Im Vergleich zu anderen Purin-Nucleosiden neigt Xanthosin aufgrund seines nahe dem Neutralpunkt liegenden pK_a -Wertes von 5.7²² (Tab. 1) zur Salzbildung. Aufgrund des Wertes von 7-Desazaxanthin ($pK_a = 7.5$) war zu erwarten, daß dies auch bei 2 der Fall ist. Das aus 9 durch Etherspaltung im neutralen Medium gewonnene 2, dessen UV-Spektrum Maxima bei 253 und 285 nm (Tab. 1) aufwies, fiel dann auch als Monoanion an. Durch Ansäuern konnte zwar neutrales 2 erhalten werden, jedoch enthielt es anorganisches Salz. Hydrophobe Chromatographie an Amberlite XAD 4²³ führte zur Abtrennung anorganischen Materials und zu analysenreinem 2. Im Gegensatz zu Xanthosin (1a), das aus wässeriger Lösung mit zwei Molen Kristallwasser auskristallisiert¹, erhält man 2 wasserfrei.

Die Nucleoside 1a und 2 besitzen ähnliche UV-Spektren. Generell sind die Maxima des 7-Desazapurin-Nucleosids 2 im Vergleich zum Purin-Nucleosid 1a bathochrom verschoben (Tab. 1). Die pH-Abhängigkeit der UV-Spektren von 2 gestattet es, dessen pK_a -Werte UV-spektroskopisch zu bestimmen und mit 1a zu vergleichen. Xanthosin besitzt für den Chromophor zwei pK_a -Werte (Tab. 1), von denen nur der bei 5.7 UV-spektroskopisch bestimmbar ist. In Analogie zum Guanosin muß es bei $pK_a = 1.8$ (Tab. 1) an N-7 protoniert werden, während bei $pK_a = 5.7$ die Deprotonierung an N-1

erfolgt. Für das 7-Desazapurin-Nucleosid 2 wurde nur ein pK_a -Wert bei 7.0 gefunden, der zum Anion führt und ähnlich wie beim Aglycon 3 liegt.

Die Stabilität der N-glycosylischen Bindung von 2 im Vergleich zu Xanthosin

In wässeriger Säure hydrolysieren Purin-Nucleoside an ihrer N-glycosylischen Bindung. Im Gegensatz dazu sind Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleoside weitgehend hydrolysestabil¹¹.

Zur mechanistischen Deutung des Phänomens soll zuerst der Hydrolysemechanismus der Purin-Nucleoside betrachtet werden, über den in der Literatur unterschiedliche Angaben^{24,25)} bestehen. Gesichert ist, daß die glycosylische Bindung auf zwei Wegen hydrolysiert werden kann, nämlich erstens durch Protonenkatalyse und zweitens durch Alkylierung der Ringstickstoffe der Nucleobase. Letzteres ist durch die schon im Neutralen hohe Labilität der N-glycosylischen Bindung von 7-Methylguanosin belegt²⁶⁾ und hat dazu geführt, daß man 3-Methyladenosin nur unter speziellen Bindungen erhalten kann²⁷⁾. Da uns keine vergleichenden Angaben über die kinetischen Parameter von Xanthosin im Vergleich zu Adenosin oder Guanosin vorlagen und auch die Angaben über die kinetischen Daten letzterer stark differierten^{24,25)}, haben wir diese Daten von Xanthosin, Guanosin und 9-(β -D-Arabinofuranosyl)adenin bestimmt und mit 2 verglichen. Die Kinetik der Spaltung konnte UV-spektroskopisch verfolgt werden, denn entweder unterscheiden sich die UV-Absorptionsmaxima von Nucleosid und Nucleobase ausreichend, oder sie besitzen bei sehr ähnlichen UV-Maxima unterschiedliche Extinktionskoeffizienten.

	55°C	$k_1 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ 65 °C	75°C	τ _{1/2} (55°C) [min]	$E_{\rm A}$ [kJ/mol]
Xanthosin (1a)	9.6	37	109	13	105 ∓ 5
Guanosin	2.1	6.1	14	54	95 ∓ 5
Adenosin	1.2	5.2	23	96	135 ∓ 5
ara-Adenosin ara-7-Desaza- xanthosin (2)	3.5	10	26 _	33	90 ∓ 5 -

Tab. 3. Kinetische Parameter der Hydrolyse^a) von Purin- und Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleosiden in 1 N HCl

^{a)} Die Hydrolyse wurde UV-spektroskopisch für Adenosin und *ara*-Adenosin bei 258 nm, für Guanosin bei 257 nm, für Xanthosin bei 241 und für *ara*-7-Desazaxanthosin bei 253 nm verfolgt und k_1 gemäß der Beziehung $k_1 = 1/t \ln (E_0 - E_{\infty})/(E_1 - E_{\infty})$ berechnet.

In Tab. 3 sind die von uns auf diesem Wege bestimmten kinetischen Konstanten der protonenkatalysierten Hydrolyse zusammengefaßt. Hierbei zeigt sich erwartungsgemäß²⁴⁾, daß in der Reihenfolge Adenosin, Guanosin, Xanthosin eine Beschleunigung der Hydrolyse erfolgt. Die Aktivierungsenergien liegen in einer vergleichbaren Größenordnung, was den Schluß zuläßt, daß die Hydrolyse einem gemeinsamen Mechanismus folgt. Da uns zum Vergleich der kinetischen Parameter von 2 das entsprechende Purin-Nucleosid 1b nicht zur Verfügung stand, haben wir den Einfluß des D-Arabinofuranosylrestes auf die Nucleosid-Hydrolyse beim 9-(β -D-Arabinofuranosyl)adenin untersucht und mit der von Adenosin verglichen (Tab. 3). Dabei zeigt sich, daß D-Arabinofuranosyl-Nucleoside schneller als D-Ribofuranosyl-Nucleoside zerfallen. Im Gegensatz dazu ist *ara*-7-Desazaxanthosin (2) unter den o.g. Bedingungen vollkommen hydrolysestabil. Dieser Befund wird auch dadurch erhärtet, daß sogar nach langer Reaktionszeit keine Bildung der Nucleobase 3 beobachtet werden konnte (DC: Kieselgel; Butanol/ Aceton/Wasser/NH₃, 40: 50:15:3).

Für die protonenkatalysierte Hydrolyse von Purin-Nucleosiden sind verschiedene Mechanismen vorgeschlagen worden, die sich im wesentlichen darin unterscheiden, daß entweder die Nucleobase oder der Furanoseringsauerstoff protoniert wird²⁶⁾. Neuere Arbeiten bevorzugen eher eine Katalyse, die über die Protonierung der Nucleobase eingeleitet wird²⁸⁾. Nach einer Protonierung gemäß Formel **10** kann so Xanthosin in einem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt zu **11** und dem Kation des glycosylischen Restes **12** zerfallen.

Die Hydrolyse der Purin-Nucleoside kann damit auf zwei Wegen gesteuert werden: Erstens durch die Fähigkeit des Aglycons als austretende Gruppe das Elektronenpaar der glycosylischen Bindung übernehmen zu können; zweitens durch elektronische Effekte der Substituenten am glycosylischen Rest, die die Bildung des Kations 12 erschweren (OH-2') oder begünstigen (H-2') können. Dieser Mechanismus steht im Einklang mit der erhöhten Hydrolyserate der 2'-Desoxyribonucleoside im Vergleich zu den Ribonucleosiden²⁹.

Die Hydrolysestabilität der Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-Nucleoside und hier speziell von 2 stützt den oben genannten Mechanismus, bei dem die Protonierung der Nucleobase die entscheidende Voraussetzung für die Hydrolyse ist. Im Gegensatz zu Xanthosin oder seinem D-Arabinofuranosylderivat 1b ist die Protonierung von 2 zu 13 oder einem tautomeren Kation extrem erschwert. Fände sie statt, so müßte das Pyrrolsystem im Gegensatz zum Imidazolsystem dearomatisiert werden. Für Pyrrol selbst wird eine Mesomerieenergie von ca. 100 kJ/mol gefunden³⁰. Ein vergleichbarer Betrag müßte hier also zusätzlich aufgebracht werden. Somit stützt die Stabilität von 2 gegnüber 1a den Mechanismus der protonenkatalysierten Hydrolyse via Protonierung an N-7. Eine zusätzliche Protonierung des Furanoseringsauerstoffs wird dabei nicht ausgeschlossen. Sie erlangt jedoch nur an Bedeutung, wenn Aglycone wie eben die der Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-Nucleoside nur sehr schwer protonierbar sind und bewirkt dann über die Offnung des glycosylischen Restes die Anomerisierung der Nucleoside. In diesem Zusammenhang konnten wir kürzlich zeigen, daß bestimmte Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-Nucleoside unter Säurekatalyse anomerisieren³¹⁾, ein Prozeß, der wegen der säurelabilen N-glycosylischen Bindung bei Purin-Nucleosiden im wässerigen alkalischen Medium beobachtet wird³².

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für die finanzielle Unterstützung der Untersuchungen.

Experimenteller Teil

¹H- und ¹³C-NMR-Spektren: Bruker-WM-250-Spektrometer; δ -Werte relativ zu Tetramethylsilan. – UV-Spektren: Kontron-Uvicon-810-Spektrometer. – Elementaranalysen: Mikroanalytisches Laboratorium Beller, Göttingen. – Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Berl-Block (Wagner & Munz). – Dünnschichtchromatographie (DC): Kieselgelplatten SIL G-25 UV₂₅₄ (Macherey-Nagel, Düren). – Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (230 – 400 mesh ASTM, Merck, Darmstadt). – Laufmittel: A = CHCl₃/CH₃OH (95:5); B = CH₂Cl₂; C = CHCl₃/ CH₃OH (9:1); D = 1 M NaCl; E = *n*-Butanol/Aceton/H₂O/NH₃ (40:50:15:3).

2-Methoxy-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (4): 12.5 g (50 mmol) O-Methyluroniumsulfat in 300 ml 1 M methanolischem Natriummethanolat werden unter Rückflußkochen mit 23.0 g (100 mmol) 2-Cyan-4,4-diethoxybuttersäure-ethylester¹⁶) in drei gleichen Portionen innerhalb von 6 h versetzt. Nach weiteren 4 h bei Siedehitze wird auf die Hälfte eingeengt und mit 1 N HCl bis pH = 1 angesäuert, wobei 4 ausfällt; 7.5 g (46%) farbloser Kristalle (Methanol) vom Schmp. 260 °C (Zers.), DC (Kieselgel, A): $R_F = 0.4. - UV$ (Methanol): $\lambda_{max} = 214, 252, 266$ Sch. nm ($\varepsilon = 16600, 9400, 7600$). $- {}^{1}$ H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 6.82$ (d, J = 3 Hz, 6-H), 6.32 (d, J = 3 Hz, 5-H), 3.82 (s, OCH₃), 11.4 (s, breit, NH).

C₇H₇N₃O₂ (165.2) Ber. C 50.91 H 4.27 N 25.44 Gef. C 51.26 H 4.33 N 25.59

4-Chlor-2-methoxy-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (5a): 5.0 g (31 mmol) 4 in 50 ml POCl₃ und 5 ml N,N-Dimethylanilin werden 5 h unter Rückfluß erhitzt. Nachdem 2/3 des POCl₃ abdestilliert worden sind, hydrolysiert man vorsichtig im doppelten Volumen kaltem Wasser und stellt mit konz. Ammoniak auf pH = 2 ein. Das graue Rohprodukt wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet; 4.5 g (82%) farbloser Kristalle (Chloroform) vom Schmp. 196 °C, DC (Kieselgel, A): $R_{\rm F} = 0.8. - UV$ (Methanol): $\lambda_{\rm max} = 224, 257, 297$ nm ($\varepsilon = 21700, 2300, 5000$). - ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 7.40$ (d, J = 3 Hz, 6-H), 6.49 (d, J = 3 Hz, 5-H), 3.90 (s, OCH₃). $C_7H_6CIN_3O$ (183.6) Ber. C 45.79 H 3.29 Cl 19.31 N 22.89

Gef. C 45.86 H 3.43 Cl 19.43 N 22.96

2,4-Dimethoxy-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (5b): 4.0 g (22 mmol) 5a werden in 150 ml 1 M methanolischem Natriummethanolat 5 h unter Rückfluß erhitzt. Es wird auf die Hälfte eingeengt und mit der doppelten Menge Wasser das Reaktionsprodukt ausgefällt; 3.5 g (91%) farbloser Kristalle (Tetrahydrofuran) vom Schmp. 214°C, DC (Kieselgel, A): $R_F = 0.42$. – UV (Methanol): $\lambda_{max} = 216, 258$ Sch., 271 nm ($\epsilon = 21400, 5000, 6200$). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 3.87$ (s, 4-OCH₃), 3.97 (s, 2-OCH₃), 6.34 (d, J = 3 Hz, 5-H), 7.08 (d, J = 3 Hz, 6-H).

C₈H₉N₃O₂ (179.2) Ber. C 53.63 H 5.06 N 23.45 Gef. C 53.52 H 5.07 N 23.42

Kondensation von 2,4-Dimethoxy-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**5b**) mit 1-Brom-2,3,5-tri-Obenzyl-D-arabinofuranose (**6**): 4.14 g (7.3 mmol) 2,3,5-Tri-O-benzyl-1-O-(p-nitrobenzoyl)- β -Darabinofuranose ³⁵) in 15 ml Dichlormethan werden mit trockenem Bromwasserstoff umgesetzt. Die ausgefallene p-Nitrobenzoesäure wird abgesaugt und die im Filtrat gelöste Halogenose **6** direkt weiterverwendet. 1.3 g (8 mmol) **5b** werden in 10 ml 1,2-Dimethoxyethan suspendiert, mit 330 mg (1.45 mmol) Benzyltriethylammoniumchlorid und dem gleichen Volumen 50proz. wässerigem Natriumhydroxid versetzt und 2 min mit dem Vibromischer gerührt. Die Halogenose **6** (in 15 ml Dichlormethan) wird langsam unter Rühren (Vibromischer) in die Emulsion getropft und das Durchmischen der Phasen 30 min fortgesetzt. Man trennt die organische Phase ab, schüttelt mit Wasser, trocknet mit Natriumsulfat, filtriert und destilliert das Lösungsmittel i. Vak. ab. Der ölige Rückstand wird in wenig Dichlormethan gelöst und im gleichen Lösungsmittel an einer 70 × 5-cm-Kieselgel-Säule (Solvens D) chromatographiert. Die beiden Hauptzonen werden abgetrennt; aus der schneller wandernden Zone A werden nach dem Eindampfen 0.7 g (17%) gelb-

liches, viskoses α -Anomer 7 und aus der langsamer wandernden 2.9 g (69%) gelbliches, viskoses β -Anomer 8 isoliert.

2,4-Dimethoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzyl- α -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (7): DC (Kieselgel, B): $R_F = 0.31. - UV$ (Methanol): $\lambda_{max} = 217, 258$ Sch., 263 nm ($\varepsilon = 33300$, 7100, 6700). - ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 3.65$ (d, J = 5 Hz, 5'-H), 3.96 (s, 4-OCH₃), 4.09 (s, 2-OCH₃), 4.1 - 4.8 (m, 2',3',4'-H), 6.41 (d, J = 3 Hz, 5-H), 6.45 (d, J = 5 Hz, 1'-H), 7.01 (d, J = 3 Hz, 6-H), 7.1 - 7.5 (m, aromat. H).

C₃₄H₃₅N₃O₆ (581.7) Ber. C 70.21 H 6.07 N 7.22 Gef. C 70.33 H 6.05 N 7.31

2,4-Dimethoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (8):DC (Kieselgel, B): $R_F = 0.33$. – UV (Methanol): λ_{max} 217, 258 Sch., 263 nm ($\epsilon = 33300$, 7100, 6700). – ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 3.71$ (d, J = 5 Hz, 5'-H), 3.99 (s, 4-OCH₃), 4.09 (s, 2-OCH₃), 4.1 – 4.8 (m, 2',3',4'-H), 6.41 (d, J = 3 Hz, 5-H), 6.68 (d, J = 5 Hz, 1'-H), 6.94 (d, J = 3 Hz, 6-H), 7.0 – 7.4 (m, aromat. H).

C34H35N3O6 (581.7) Ber. C 70.21 H 6.07 N 7.22 Gef. C 70.31 H 6.13 N 7.13

7-(β-D-Arabinofuranosyl)-2,4-dimethoxy-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (9): 1.0 g (1.72 mmol) 8 in 30 ml Dichlormethan werden auf -18 °C abgekühlt, bei dieser Temp. mit 15 ml 1 M Bortrichlorid in Dichchlormethan versetzt und 3 h stehengelassen, in 50 ml Methanol hydrolysiert, eingeengt und mehrmals mit Methanol versetzt und wieder eingedampft; 0.41 g (76%) farblose Nadeln (Wasser) vom Schmp. 147 °C, DC (Kieselgel, B): $R_F = 0.45$. – UV (Methanol): $\lambda_{max} = 218$, 258, 271 nm ($\varepsilon = 28000$, 6900, 7100). – ¹H-NMR (D₂O): $\delta = 3.6-3.8$ (m, 5',4'-H), 3.84 (s, 4-OCH₃), 3.90 (s, 2-OCH₃), 4.24 (t, J = 6 Hz, 3'-H), 4.37 (t, J = 6 HZ, 2'-H), 6.34 (d, J = 6 Hz, 1'-H), 6.39 (d, J = 3.7 Hz, 5-H), 7.10 (d, J = 3.7 Hz, 6-H).

C13H17N3O6 (311.3) Ber. C 50.16 H 5.51 N 13.50 Gef. C 50.13 H 5.56 N 13.66

7-(β -D-Arabinofuranosyl)-1,3-dihydro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (**2**): 500 mg (1.6 mmol) **9** in 100 ml 1,4-Dioxan werden unter Zugabe von 15 ml 1 N HCl 8 h gekocht, das 1,4-Dioxan wird verdampft und der Rückstand in 20 ml 1 N HCl aufgenommen und an einer 50 × 3-cm-Säule (Amberlite XAD 4, 0.3 – 1 mm) mit dest. Wasser salzfrei gewaschen. Elution mit Wasser/Ethanol (4: 1) ergibt 350 mg (77%) **2** als farblose Nadeln (Wasser) vom Schmp. 232 °C, DC (Kieselgel, E): $R_F = 0.6$; (PEI-Cellulose, D): $R_F = 0.6$. – UV (Puffer, pH = 7.0): $\lambda_{max} = 218, 251, 283$ nm ($\varepsilon = 22600, 9500, 6500$). – ¹H-NMR (D₂O): $\delta = 3.7 - 4.0$ (m, 5'-H, 3'-H), 4.10 (t, J = 6 Hz, 4'-H), 4.32 (t, J = 6 Hz, 2'-H), 5.92 (d, J = 6 Hz, 1'-H), 6.35 (d, J = 3.5, 5-H), 6.72 (d, J = 3.5 Hz, 6-H).

C11H13N3O6 (283.2) Ber. C 46.65 H 4.63 N 14.84 Gef. C 46.61 H 4.79 N 15.00

- ⁶⁾ H. Rosemeyer und F. Seela, Eur. J. Biochem. 134, 513 (1983).
- ⁷⁾ R. K. Robins, J. Am. Chem. Soc. 78, 784 (1956).
- ⁸⁾ C. Walsh, Enzymatic Reaction Mechanisms, W. H. Freeman, San Francisco 1979.
- ⁹⁾ H. S. Shapiro und E. Chargaff, Biochemistry 5, 3012 (1966).
- ¹⁰⁾ J. J. Fox, Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 5, 251 (1966).

¹⁾ P. A. Levene und W. A. Jakobs, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 43, 3150 (1910).

²⁾ J. Liebig und F. Wöhler, Ann. Pharm. 26, 340 (1838).

³⁾ L. Stryer, Biochemistry, W. H. Freeman, San Francisco 1981.

⁴⁾ R. C. Bray, Enzymes 7, 533 (1963).

⁵⁾ F. Bergmann, H. Kwietny, G. Levin und D. J. Brown, J. Am. Chem. Soc. 82, 598 (1960).

¹¹⁾ F. Seela, H.-D. Winkeler, J. Ott, Q.-H. Tran-Thi, D. Hasselmann, D. Franzen und W. Bußmann, Synthesis of Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine Nucleosides by Phase-Transfer Glycosylation and Their Function in Polynucleotides, in "Nucleosides, Nucleotides and Their Biological Applications" (Edit. J. L. Rideout, D. W. Henry und L. M. Beacham III), Academic Press, New York, im Druck.

- ¹²⁾ K. Anzai und S. Marumo, J. Antibiot., Ser. A 10, 20 (1957).
- 13) F. Seela und D. Hasselmann, Chem. Ber. 114, 3395 (1981).
- ¹⁴⁾ G. A. Howard, A. C. McLean, G. T. Newbold, F. S. Spring und A. R. Todd, J. Chem. Soc. 1949, 232.
- 15) J. L. Barascut, H. B. Lazrek und J. L. Imbach, J. Carbohydr., Nucleosides, Nucleotides 8, 423 (1981).
- ¹⁶⁾ J. Davoll, J. Chem. Soc. 1960, 131.
- ¹⁷⁾ S. Senda und K. Hirota, Chem. Pharm. Bull. 22, 1459 (1974).
- 18) F. Seela und H.-D. Winkeler, Liebigs Ann. Chem. 1982, 1634.
- ¹⁹⁾ F. Seela und A. Kehne, Liebigs Ann. Chem. 1982, 1940.
- ²⁰⁾ F. Seela und A. Kehne, Liebigs Ann. Chem. 1983, 876.
 ²¹⁾ H.-D. Winkeler und F. Seela, J. Org. Chem. 48, 3119 (1983).
- 22) J. H. Christensen, J. H. Rytting und R. M. Izatt, Biochemistry 9, 4907 (1970).
- ²³⁾ G. C. Mills, J. Chromatogr. 242, 103 (1982).
- ²⁴⁾ H. Venner, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 339, 14 (1964).
- 25) R. P. Panzica, R. J. Rousseau, R. K. Robins und L. B. Townsend, J. Am. Chem. Soc. 94, 4708 (1972).
- ²⁶⁾ J. A. Zoltewicz, D. F. Clark, T. W. Sharpless und G. Grahe, J. Am. Chem. Soc. 92, 1741 (1970).
- 27) T. Saito und T. Fukui, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1979, 135.
- 28) F. Jordan und H. Niv, Nucleic Acids Res. 4, 697 (1977).
- 29) N. K. Kochetkov und E. I. Budovski, Organic Chemistry of Nucleic Acids, Part B, Plenum Press, London und New York 1972.
- ³⁰⁾ A. Gossauer, Die Chemie der Pyrrole, Springer Verlag, Berlin 1974.
- 31) F. Seela und H.-D. Winkeler, Carbohydr. Res. 118, 29 (1983).
- 32) Y. Suzuki und S. Yatabe, Bull. Chem. Soc. Jpn. 47, 2353 (1974).
- 33) J. R. Jones und S. E. Taylor, J. Chem. Soc. II, 1979, 1253.
- 34) T. Teorell und E. Stenhagen, Biochem. Z. 299, 416 (1938).
- ³⁵⁾ R. Barker und H. G. Fletcher jr., J. Org. Chem. 26, 4605 (1961).

[154/83]