

2'-Desoxyribofuranoside des 6-Oxoallopurinols und verwandter 4,6-substituierter Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine

Frank Seela* und Sabine Menkhoff

Laboratorium für Organische und Bioorganische Chemie,
Fachbereich Biologie/Chemie, Universität Osnabrück,
Barbarastraße 7, D-4500 Osnabrück

Eingegangen am 16. Dezember 1985

(2'-Desoxyribofuranosyl)-6-oxoallopurinol (**3**) sowie 4,6-substituierte Amino- oder Methoxyabkömmlinge wie **7b** und **8** wurden durch nucleophile Substitution aus dem Dimethoxynucleosid **7a** dargestellt. Letzteres erhält man durch Phasentransferglycosylierung der Nucleobasen-Derivate **5a**, **b** oder **5c** mit der Halogenose **4**, gefolgt von Detoluoylierung mit Natriummethoxid. Das ¹³C-NMR-Spektrum von Oxoallopurinol zeigt, daß die Verbindung im aprotischen Medium nicht als 1*H*- sondern als 2*H*-Tautomer **9** vorliegt und damit das gleiche Protonenmuster wie das als 7*H*-Tautomer vorliegende Xanthin besitzt. An der N-glycosylischen Bindung ist **3** etwa so stabil wie das entsprechende 8-Aza-7-desazaguanin-2'-desoxyribofuranosid.

2'-Deoxyribofuranosides of 6-Oxoallopurinol and of Related 4,6-Disubstituted Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines

(2'-Deoxyribofuranosyl)-6-oxoallopurinolide (**3**) as well as the 4,6-substituted amino and methoxy derivatives **7b** and **8** have been prepared by nucleophilic displacement reaction of the dimethoxynucleoside **7a**. The latter was obtained by phase-transfer glycosylation of the nucleobase derivatives **5a**, **b** or **5c** with the halogenose **4** and subsequent detoluoylization with sodium methoxide. From the ¹³C-NMR spectrum of oxoallopurinol it was deduced that this compound does not exist as 1*H* but as 2*H* tautomer **9** in aprotic media exhibiting the same proton pattern like the 7*H*-tautomeric structure of xanthine. Hydrolysis experiments showed that compound **3** is approximately as stable at the N-glycosylic bond as the 2'-deoxyribofuranoside of 8-aza-7-deazaguanine.

Oxoallopurinol¹⁾ (**1**) ist der eigentliche Inhibitor der reduzierten Form der Xanthinoxidase²⁾. Innerhalb der Gruppe der Enzyminhibitoren nimmt es eine Sonderstellung ein, da seine Halbwertszeit für die Dissoziation vom Enzym etwa 300 min beträgt und zur quasi-irreversiblen Enzymhemmung führt³⁾. Von der Stammverbindung des Oxoallopurinols, dem Xanthin (**2a**), ist sowohl das β-D-Ribofuranosid **11b**⁴⁾ als auch das β-D-Desoxyribofuranosid⁵⁾ bekannt. Vom 6-Oxoallopurinol ist in dieser Reihe nur das β-D-Ribofuranosid durch enzymatische Synthese zugänglich⁶⁾, eine Synthese für das β-D-Desoxyribofuranosid existiert nicht.

Bei Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinen konnten wir bereits früher zeigen, daß sich diese stereospezifisch glycosylieren lassen, wenn man in situ das Nucleobaseanion erzeugt⁷⁾. Die Glycosylierung folgt einem S_N2-Mechanismus⁸⁾ und führt, da die Halogenose **4** als α-Anomer vorliegt⁹⁾, fast ausschließlich zum β-Desoxyribofuranosid. Die Generierung des Nucleoba-

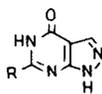
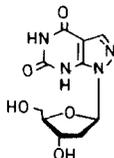
seanions kann entweder im zweiphasigen System Dichlormethan/50% Natronlauge unter Phasentransferbedingungen⁷⁾ oder in wasserfreiem aprotischem Medium mit Natriumhydrid erfolgen^{10,11,12)}

Die Glycosylierung von Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidinen unter den o.g. Bedingungen hatte ergeben, daß neben dem N-1-Glycosylierungsprodukt auch in geringer Menge das N-2-Regioisomer entsteht^{13,14)}. Das Verhältnis der Regioisomeren hängt sowohl vom Substituentenmuster der Nucleobase, als auch vom Typ des Phasentransferkatalysators ab. Oxalopurinol (**1**) läßt sich aufgrund der nucleophilen Lactamstickstoffe nicht selektiv an N-1 glycosylieren. Um Reaktionen im Pyrimidinring zu vermeiden, müssen deshalb Nucleobasenvorstufen eingesetzt werden, die sich dann später in das Oxalopurinolsystem umwandeln lassen.

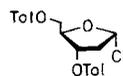
Als geeignete Vorstufe für **1** bietet sich die Dichlorverbindung **5a**¹⁵⁾ an. Diese erhält man in wenigen Syntheseschritten aus Ethoxymethylenmalonnitril und Hydrazin. Die Glycosylierung von **5a** mit der Halogenose **4** im zweiphasigen System Dichlormethan/50% wässrige Natronlauge führt in Gegenwart von Tetrabutylammonium-hydrogensulfat zu dem N-1-Regioisomeren **6a** als Hauptprodukt in etwa 40% Ausbeute.



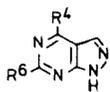
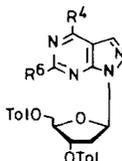
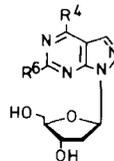
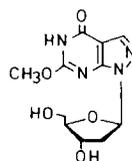
1

2 a. R = H
b. R = OCH₃

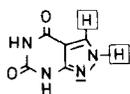
3



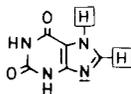
4

5 a. R⁴ + R⁶ = Cl
b. R⁴ = OCH₃, R⁶ = Cl
c. R⁴ + R⁶ = OCH₃
d. R⁴ = NH₂, R⁶ = OCH₃6 a. R⁴ + R⁶ = Cl
b. R⁴ = OCH₃, R⁶ = Cl
c. R⁴ + R⁶ = OCH₃7 a. R⁴ + R⁶ = OCH₃
b. R⁴ = NH₂, R⁶ = OCH₃

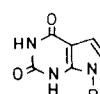
8



9



10

11 a. R = H
b. R = β-D-Ribo-furanosyl12 a. R = H
b. R = β-D-Deoxy-Ribofuranosyl

Die Zuordnung der **6a**-Glycosylierungsposition ergab sich aus den ¹³C-Verschiebungen der C-3- und C-7a-Signale (Tabelle). Entsprechend den bereits am (2'-Desoxyribofuranosyl)allo-

purinol gemachten Befunden (die C-3- und C-7a-Signale von Nucleosid und Nucleobase erscheinen bei ähnlicher Verschiebung) ist die N-1-Verknüpfungsposition bewiesen. Bei einer N-2-Glycosylierung wäre C-3 bis zu 10 ppm hochfeld-, C-7a hingegen tieffeldverschoben¹⁴⁾. Die Zuordnung von Verbindungen **6a** zur β -Konfigurationsreihe konnte nach einer Methode von *Nuhn*¹⁶⁾ vorgenommen werden. Im ¹H-NMR-Spektrum zeigen nämlich die 4'-H- und 5'-H-Signale bei den α -Anomeren eine große Verschiebungsdifferenz, während sie bei den β -Anomeren zusammenfallen. Die fast identischen Verschiebungen dieser Protonen bestätigen die β -Konfiguration in **6a**.

Bei der Abspaltung der Toluoylreste von Verbindung **6a** wird gleichzeitig der 4- und der 6-Halogensubstituent nucleophil ausgetauscht, so daß sich mit Natriummethoxid nur die Dimethoxyverbindung **7a** isolieren läßt. Die hohe Reaktivität, speziell des 4-Halogens, führt bereits beim Aufbewahren der Dichlorverbindung **6a** in methanolischer Lösung oder bei Chromatographie in methanolhaltigen Laufmitteln zum Cl/OCH₃-Austausch.

Diese Befunde haben uns veranlaßt, im folgenden nicht die Dichlorverbindung **5a**, sondern das Chlormethoxyderivat **5b**¹⁵⁾ in die Phasentransferglycosylierung einzusetzen. Verbindung **5b** läßt sich aus **5a** durch Behandeln mit Natriummethoxid bei Raumtemperatur herstellen. Hier verhindert die Bildung des Pyrazolylanions den zweiten nucleophilen Angriff an C-6, so daß die Monosubstitution durch den Methoxyrest bei der Nucleobase im Gegensatz zum entsprechenden Nucleosid **6a** möglich ist. Die geringere Reaktivität von **5b** im Vergleich zu **5a** erlaubt nun die Darstellung von **6b** in einer Ausbeute von 48%. Detoluoylierung von **6b** mit Natriummethoxid führt unter Austausch des 6-Halogensubstituenten zum Nucleosid **7a**. In einer entsprechenden Reaktionsfolge läßt sich auch aus der Dimethoxyverbindung **5c** das Nucleosid **7a** gewinnen. Auf diesem Wege wird auch das geschützte Dimethoxynucleosid **6c** zugänglich, das dann ebenfalls in **7a** umgewandelt werden kann. Diesem Verfahren steht allerdings entgegen, das **5c** aus **5a** erst durch vielstündiges Rückflußerhitzen in Natriummethoxid/Methanol gebildet wird, was die Zugänglichkeit des Intermediates **5c** für die Darstellung von **6c** einschränkt. Glycosylierung von **5b** liefert somit den besten Zugang zum Dimethoxynucleosid **7a**.

Bewahrt man **7a** in wässrigem Ammoniak auf, so wird selektiv der 4-Methoxyrest ausgetauscht, wobei sich das Nucleosid **7b** neben einer geringen Menge der Verbindung **8** bildet. Ausschließlich entsteht **8**, wenn man **7a** mit verdünnter Natronlauge bei Raumtemperatur umsetzt. Da die Aglycone der Nucleoside **7b** und **8** unbekannt waren, haben wir auch diese aus der Dimethoxyverbindung **5c** entweder durch Einwirkung von Natronlauge oder von wässrigem Ammoniak dargestellt. Beide Reaktionsfolgen erforderten jedoch im Vergleich zu den entsprechenden Nucleosiden forcierte Reaktionsbedingungen. Zur Synthese des 2'-Desoxyribofuranosids **3** setzten wir **7a** mit Natronlauge in Gegenwart von Dimethylsulfoxid¹⁷⁾ um. Unter diesen Bedingungen wird der als Zwischenstufe mögliche Meisenheimer-Komplex stabilisiert und die Aktivierungsenergie herabgesetzt¹⁸⁾. In einer (20:1)-NaOH/DMSO-Mischung ließ sich so bereits durch kurzes Erhitzen **7a** in **3** umwandeln, während die Reaktion in Abwesenheit von DMSO nur äußerst langsam abläuft. Nach hydrophober Chromatographie kann

analysenreines **3** erhalten werden, dessen NMR-Daten die Konstitution bestätigten.

Vergleicht man die ^{13}C -NMR-chemischen Verschiebungen der 2'-Desoxynucleoside **7a**, **b** oder **8** mit den entsprechenden Aglyconen **5c**, **d** oder **2b** (Tabelle), so ergeben sich für die Signale der Nucleoside und Nucleobasen nur geringe Verschiebungsdifferenzen. Die ^{13}C -NMR-Spektren von Oxoallopurinol (**1**) und dessen 2'-Desoxyribofuranosid **3**, weisen dagegen gravierende Unterschiede, speziell zwischen den C-3- und den C-7a-Signalen auf. Diese Befunde waren nicht ohne weiteres interpretierbar. Um sicherzustellen, daß das C-3-Signal in **1** richtig zugeordnet war, haben wir dessen protonengekoppeltes ^{13}C -NMR-Spektrum aufgenommen. Hier zeigte sich, daß nur das Signal bei $\delta = 129.2$ mit einer 1J -Kopplung von 194 Hz zum Dublett aufspaltet, womit die ursprüngliche Zuordnung bestätigt war.

Wie bereits von *Pugmire* gezeigt¹⁹⁾, führt die Protonierung eines heterocyclischen Stickstoffs zu einer starken Hochfeldverschiebung des α -ständigen Kohlenstoffs im ^{13}C -NMR. Umgekehrt beobachtet man eine Tieffeldverschiebung der α -Signale, wenn ein Proton von einem entsprechenden Stickstoff abstrahiert wird. Diese Befunde lassen sich auf methylierte und glycosylierte Heterocyclus übertragen. Wir konnten so bei Allopurinol-2'-desoxynucleosiden zeigen, daß bei den N-2-glycosylierten Verbindungen das C-3-Signal im Vergleich zu den N-1-Isomeren um 7 bis 10 ppm hochfeldverschoben ist¹⁴⁾. Bei der Nucleobase **1** finden wir ähnliche ^{13}C -NMR-Verschiebungen wie bei N-2-glycosylierten Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidinen. Dies zeigt, daß die Verbindung nicht wie in **1** als 1*H*-Tautomer, sondern als 2*H*-Tautomer **9** vorliegt. Diese Befunde werden auch dadurch gestützt, daß das C-7a-Signal des Nucleosids **3** deutlich hochfeldverschoben (144.9 ppm) zu dem der 2*H*-Nucleobase **9** ($\delta = 150.4$) erscheint. Die starke Hochfeldverschiebung des C-7a-Signals beim Nucleosid **3** im Vergleich zur Nucleobase wird bei den 2'-Desoxynucleosiden **7a**, **b** und **8** nicht beobachtet. Damit steht fest, daß die Nucleobasen **2a**, **b**, wie auch **5c**, **d** als 1*H*-Tautomere vorliegen.

Die ungewöhnliche Tautomerenanlage von Oxoallopurinol kann gut mit Befunden am Xanthin korreliert werden. Hier wurde in einer Reihe von Arbeiten gezeigt^{20,21)}, daß dieses nicht als 9*H*-Tautomer **11a**, sondern als 7*H*-Tautomer vorliegt. Unmittelbar zeigt dies auch der Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von Xanthin (**10**) mit Xanthosin (**11b**) (Tabelle). Die starke Hochfeldverschiebung von C-5 in Verbindung **10** ($\delta = 106.4$) im Vergleich zum Nucleosid **11b** ($\delta = 116.2$) und gegenläufige Befunde für C-4 beweisen, daß Xanthin nicht als 9*H*- sondern als 7*H*-Tautomer **10**, vorliegt. Nur bei den früher von uns untersuchten Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleosiden fallen in der Reihe der Xanthosinanaloga **12a**, **b** die chemischen Verschiebungen der Nucleobase **12a** mit denen des Nucleosids **12b** zusammen (Tabelle). Ursache hierfür ist, daß bei **12a** das N-7-Proton auf keinen anderen Stickstoff ausweichen kann.

Im Hinblick auf die starke Inhibitionswirkung von Oxoallopurinol gegenüber Xanthinoxidase, was diese Substanz oder dessen metabolische Vorstufe Allopurinol zum wirksamsten Pharmazeutikum bei der Bekämpfung der Gicht macht, ist die Tautomerenanlage entsprechend Formel **9** bemerkenswert. In dieser Anordnung der Protonen besitzt Verbindung **9** das gleiche Protonenmuster wie die Purin-Stammverbindung Xanthin (**10**). Auch ist so bei beiden Heterocyclus gewährleistet, daß der Ringstickstoff (N-1 bzw. N-9) kein Proton

Tabelle. ¹³C-NMR-Verschiebungen von Purinen, Pyrazolo[3,4-*d*]- und Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinen sowie deren 2'-Desoxynucleosiden^{a)}

Verb.	C-3	C-3a	C-4	C-6	C-7a	OCH ₃	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
<u>1</u>	129.2	100.1	159.4	151.5	150.4						
<u>2b</u>	135.0	101.6	157.9	157.2	154.0	54.7					
<u>3</u>	136.1	99.9	158.2	151.0	144.9		86.0	38.6	70.9	87.8	62.0
<u>5a</u>	132.9	111.8	155.5 ^{b)}	154.7 ^{b)}	154.2 ^{b)}						
<u>5b</u>	131.5	100.4	163.8	155.6	156.9	54.8					
<u>5c</u>	131.8	97.8	163.9 ^{b)}	164.4 ^{b)}	157.8	54.4/53.8					
<u>5d</u>	132.5	96.5	164.6	158.8	156.9	53.4					
<u>6a</u>	133.9	113.1	155.5 ^{b)}	154.5 ^{b)}	154.3		81.7	35.3	74.3	84.7	63.5
<u>6b</u>	133.0	101.7	163.8	155.7	156.3	55.1	81.5	35.2	74.5	84.3	63.7
<u>6c</u>	132.6	98.9	164.1	164.6	156.7	54.6/54.0	81.1	35.0	74.5	84.3	63.8
<u>7a</u>	132.1	98.8	163.9 ^{b)}	164.4	156.6	54.5/54.0	84.0	37.7	70.8	87.4	62.2
<u>7b</u>	133.0	97.4	164.6	158.8	155.8	53.7	83.7	37.6	71.0	87.0	62.3
<u>8</u>	135.1	102.6	159.5	159.1	153.7	54.7	83.9	37.9	71.1	87.6	62.4
<u>9</u>	129.2	100.1	159.3	151.5	150.4						
	C-8/6	C-5/4a	C-6/4	C-2	C-4/7a	C-5	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
<u>10</u>	140.4	106.4	155.3	151.2	148.8						
<u>11b</u>	139.3	116.2	157.8	150.4	135.4		88.7	74.0	70.7	86.0	61.2
<u>12a</u> ²⁴⁾	116.5	98.6	159.9	151.1	138.9	102.9					
<u>12b</u> ²⁴⁾	117.5	99.6	159.5	150.8	138.2	103.2	85.6	40.4	70.9	87.4	61.6

a) In [D₆]DMSO. — b) Zuordnung vertauschbar.

Aromatische C-, CO- und CH₃-Signale: **6a**: 143.7, 143.3, 128.8–129.2, 165.0, 165.1, 126.3–126.4, 20.9. — **6b**: 143.7, 143.6, 128.9–129.2, 165.2, 165.3, 126.4–126.5, 20.9. — **6c**: 143.7, 143.4, 128.8–129.2, 165.1, 165.2, 126.5, 20.9.

trägt, beides Befunde, die im Hinblick auf die Entwicklung neuer Xanthinoxidaseinhibitoren bemerkenswert sind.

Im Zusammenhang mit dem Einbau von (2'-Desoxyribofuranosyl)pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin in DNA-Fragmente haben wir die Stabilität der N-glycosylischen Bindung von **3** in 0.5 N Salzsäure untersucht und mit anderen Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-2'-desoxynucleosiden verglichen. Da die Nucleobase **9** und das Nucleosid **3** in 0.5 N Salzsäure unterschiedliche UV-Spektren aufweisen, konnte die Bestimmung kinetischer Parameter UV-spektrometrisch erfolgen. Die Nucleobase ist unter diesen Reaktionsbedingungen stabil; somit kann aus der Abnahme der Extinktion bei 235 nm die Hydrolyserate bestimmt werden. Für **3** ergibt sich bei 25°C eine Halbwertszeit von 5.5 min. Diese liegt ganz ähnlich wie beim (2'-Desoxyribofuranosyl)-4-amino-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4(5*H*)-on (4.95 min)²²⁾ und auch im Bereich herkömmlicher DNA-Bausteine (2'-Desoxyadenosin; 1 N HCl; τ/2 = 3.5 min). Die Geschwindigkeitskonstante *k* kann für Verbindung **3**

aus der Beziehung $k = 1/t \ln (E_0 - E)/(E_t - E)$ ermittelt werden und führt bei 25°C zu einem Wert von $k = 1.3 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$. Durch Bestimmung der k -Werte zwischen 20°C und 35°C und Auftragung nach Arrhenius ergibt sich eine Aktivierungsenergie von 101 kJ/mol für die protonenkatalysierte N-Glycosidhydrolyse.

Wir danken Herrn Dr. H. Rosemeyer und Dipl.-Chem. H. Driller für hilfreiche Diskussionen, der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung der Untersuchungen.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Linström-Apparat (Wagner & Munz, München). — Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Beller, Göttingen. — ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren: Bruker-WM-250-Spektrometer; δ -Werte relativ zu Tetramethylsilan (interner Standard). — UV-Spektren: Uvicon 810-Spektrometer (Kontron, Schweiz) bzw. SuperScan 3-Spektrometer (Varian, Australien). — Dünnschichtchromatographie (DC): Kieselgelplatten Sil G-25₂₅₄ (Macherey-Nagel & Co, Düren). — Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (230–400 mesh ASTM) und Kieselgel 60H (Merck, Darmstadt); Ionenaustauscher Harz (Dowex 1 \times 2, OH[⊖]-Form, Serva, Heidelberg); Amberlite XAD-4 Harz (Serva, Heidelberg). Die Säulen waren mit einem Uvicord-S-Photometer und einem UltraRac-Fraktionsammler verbunden (LKB-Instruments, Schweden).

Laufmittel für die Chromatographie: A (Dichlormethan/Methanol, 95:5), B (Dichlormethan/Methanol, 9:1), C (Cyclohexan/Ethylacetat, 4:1), D (Dichlormethan/Methanol, 4:1), E (Wasser/2-Propanol, 9:1).

4-Amino-6-methoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin (**5d**): 800 mg (4.1 mmol) 4,6-Dimethoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin¹⁵ (**5c**) werden in einer Mischung von 100 ml konz. Ammoniak und 50 ml Dioxan 5 Tage unter Druckverschluß bei 60°C im Wasserbad aufbewahrt. Man dampft ein, nimmt in wenig Methanol auf, adsorbiert an Kieselgel und trägt dieses auf den Kopf einer mit Kieselgel gefüllten (40 \times 3.5 cm)-Säule auf. Solvens A eluiert eine Vorzone, Solvens B das Reaktionsprodukt. Nach dem Eindampfen erhält man 450 mg (67%) amorphe Substanz. Zur Bestimmung der analytischen Daten wird aus Methanol umkristallisiert: farblose Kristalle, die oberhalb von 250°C sublimieren. — DC (Kieselgel, B): $R_F = 0.4$. — UV (Methanol) $\lambda_{\text{max}} = 263 \text{ nm}$ ($\epsilon = 9100$). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 3.79$ (s, OCH₃), 7.52 (s, breit, NH₂), 7.94 (s, 3-H), 13.03 (s, 1-H).

C₆H₇N₃O (165.2) Ber. C 43.64 H 4.27 Gef. C 43.37 H 4.56

6-Methoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4(5H)-on (**2b**): 400 mg (2.1 mmol) **5c** in 50 ml 2 N Natronlauge werden im verschlossenen Kolben 50 h bei 50°C aufbewahrt. Es wird mit 2 N Salzsäure neutralisiert und an einer Amberlite-XAD-Säule (40 \times 3 cm) adsorbiert. Wasser (1000 ml) eluiert anorganische Salze, Solvens E Verbindung **2b**. Beim Einengen der Hauptzone kristallisieren 267 mg (78%) farblose Nadeln aus, die oberhalb von 240°C sublimieren. — DC (Kieselgel, Solvens B): $R_F = 0.5$. — UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} = 234 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8600$). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 3.93$ (s, OCH₃), 7.93 (s, 3-H), 11.94 und 13.43 (2s, NH).

C₆H₆N₄O₂ (166.2) Ber. C 43.38 H 3.64 N 33.72 Gef. C 43.64 H 3.28 N 33.79

6-Chlor-1-[2-desoxy-3,5-di-O-(p-toluoyl)- β -D-erythro-pentofuranosyl]-4-methoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin (**6b**): 500 mg (2.71 mmol) 6-Chlor-4-methoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin¹⁵ (**5b**) und 70 mg (0.2 mmol) Tetrabutylammonium-hydrogensulfat in 20 ml Dichlormethan werden mit 3 ml 50proz. wäßriger Natronlauge versetzt. Danach werden 1.47 g

(3.8 mmol) 2-Deoxy-3,5-di-*O*-(*p*-toluoyl)- α -D-erythro-pentofuranosylchlorid²³ (**4**), gelöst in wenig Dichlormethan, unter Vibromischen zugetropft. Der Reaktionsansatz wird mit Dichlormethan verdünnt, die organische Phase abgetrennt, mit Wasser geschüttelt und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wird eingedampft, in wenig Dichlormethan aufgenommen und an einer (50 \times 6 cm)-Kieselgelsäule mit Dichlormethan chromatographiert. Der Inhaltsstoff der schnell wandernden Hauptzone wird isoliert. Umkristallisation aus Methanol führt zu 696 mg (48%) farblosen Nadeln vom Schmp. 154°C. — DC (Kieselgel, Solvens C): R_F = 0.4. — UV (Methanol): λ_{\max} = 241 nm (ϵ = 42900). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.37, 2.40 (2s, CH₃-Tol.), 2.80 (m, 2'-H_a), 3.25 (m, 2'-H_b), 4.12 (s, OCH₃), 4.40–4.60 (m, 4', 5'-H), 5.84 (m, 3'-H), 6.78 (pt, 1'-H), 7.28–7.37, 7.82–7.96 (m, arom. H), 8.41 (s, 3-H).

C₂₇H₂₅ClN₄O₆ (537.0) Ber. C 60.39 H 4.69 Cl 6.60 N 10.43

Gef. C 60.52 H 4.69 Cl 6.72 N 10.50

1-[2-Desoxy-3,5-di-*O*-(*p*-toluoyl)- β -D-erythro-pentofuranosyl]-4,6-dichlor-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin (**6a**): 500 mg (2.64 mmol) 4,6-Dichlor-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin¹⁵ (**5a**) werden wie bei **6b** beschrieben glycosyliert und aufgearbeitet. Der amorphe Inhaltsstoff der schnell wandernden Hauptzone (500 mg, 36%) kristallisiert aus Ethylacetat in farblosen Nadeln vom Schmp. 161°C. — DC (Kieselgel, Solvens C): R_F = 0.4. — UV (Methanol): λ_{\max} = 240, 270 nm (ϵ = 35300, 8000). — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.39, 2.42 (2s, CH₃-Tol.), 2.70 (m, 2'-H_a), 3.40 (m, 2'-H_b), 4.54 (m, 5'-H), 4.61 (m, 4'-H), 5.89 (m, 3'-H), 6.91 (pt, 1'-H), 7.18–7.28, 7.90–7.97 (arom. H), 8.13 (s, 3-H).

C₂₆H₂₂Cl₂N₄O₅ (541.4) Ber. C 57.68 H 4.10 Cl 13.10 N 10.35

Gef. C 57.75 H 4.21 Cl 13.00 N 10.25

1-[2-Desoxy-3,5-di-*O*-(*p*-toluoyl)- β -D-erythro-pentofuranosyl]-4,6-dimethoxy-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin (**6c**): 500 mg (2.78 mmol) 4,6-Dimethoxy-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin¹⁵ (**5c**) werden wie **5b** mit 1.47 g (3.8 mmol) der Halogenose **4** in Gegenwart von 70 mg (0.2 mmol) Tetrabutylammonium-hydrogensulfat glycosyliert und aufgearbeitet. Die Chromatographie des Reaktionsgemisches erfolgt hier an einer (50 \times 4 cm)-Kieselgelsäule mit Dichlormethan. Aus der Hauptzone erhält man beim Einengen 595 mg (40%) farblose Kristalle vom Schmp. 162°C. — DC (Kieselgel, Solvens C): R_F = 0.3. — UV (Methanol): λ_{\max} = 240 nm (ϵ = 37800). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.37, 2.40 (2s, 2 CH₃), 2.75 (m, 2'-H_b), 3.31 (m, 2'-H_a), 3.99, 4.06 (2s, 2 OCH₃), 4.43 (m, 5'-H), 4.49 (m, 4'-H), 5.89 (m, 3'-H), 6.71 (t, 1'-H), 7.23–7.38 (m, arom. H), 8.21 (s, 3-H).

C₂₈H₂₈N₄O₇ (532.6) Ber. C 63.15 H 5.30 N 10.52 Gef. C 63.08 H 5.20 N 10.48

1-(2-Desoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-4,6-dimethoxy-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin (**7a**): 500 mg (1.68 mmol) der Verbindung **6b** in 100 ml 1 M Natriummethoxid in Methanol werden 2 h bei Raumtemp. gerührt. Man dampft ein, nimmt in wenig Methanol auf, adsorbiert an Kieselgel [(30 \times 4 cm)-Säule] und eluiert mit Solvens A. Nach dem Eindampfen der Hauptzone erhält man 190 mg (69%) farbloses amorphes **7a**. Umkristallisation aus Wasser liefert farblose Nadeln vom Schmp. 166°C. — DC (Kieselgel, Solvens A): R_F = 0.3. — UV (Methanol): λ_{\max} = 221, 257 nm (ϵ = 20600, 8200). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): 2.27 (m, 2'-H_a), 2.81 (m, 2'-H_b), 3.40 (5'-H₂), 3.81 (m, 4'-H), 4.45 (m, 3'-H), 4.72 (t, 5'-OH, J = 5.5 Hz), 5.30 (d, 3'-OH, J = 4 Hz), 6.53 (pt, 1'-H), 8.14 (s, 3-H).

C₁₇H₁₇N₄O₅ (296.3) Ber. C 48.65 H 5.44 N 18.91 Gef. C 48.38 H 5.64 N 18.87

1-(2-Desoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-5,7-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4,6-(5*H*,7*H*)-dion (**3**): 500 mg (0.93 mmol) der Verbindung **7a** werden in 20 ml 2 N Natronlauge/1 ml Dimethylsulfoxid suspendiert und 3 h unter Rückfluß erhitzt. Die abgekühlte klare

Lösung wird mit Eisessig neutralisiert und das Salz durch Adsorption an einer Amberlite XAD-Säule (18 × 3 cm) durch Elution mit Wasser abgetrennt. Solvens E eluiert das Hauptprodukt, das durch Eindampfen und Anlösen in wenig Methanol an Kieselgel adsorbiert wird (Säule 30 × 2.5 cm). Elution mit Solvens A, dann mit Solvens B führt nach dem Eindampfen zu 177 mg (39%) farblosem, amorphem Rückstand. — DC (Kieselgel, Solvens D): $R_F = 0.5$. — UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 232, 249 \text{ nm}$ ($\epsilon = 6600, 7400$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 2.19$ (m, 2'-H_a), 2.67 (m, 2'-H_b), 3.41 (m, 5'-H₂), 3.85 (m, 4'-H), 4.38 (m, 3'-H), 5.27 (d, 3'-OH, $J = 4 \text{ Hz}$), 6.29 (pt, 1'-H), 7.88 (s, 3-H), 10.88 (s, NH).

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5$ (268.2) Ber. C 44.77 H 4.51 N 20.88 Gef. C 44.84 H 4.35 N 20.85

1-(2-Desoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-6-methoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4(5H)-on (**8**): 150 mg (0.5 mmol) des Nucleosids **7a** werden 5 h in 20 ml 2 N Natronlauge bei 35°C aufbewahrt (Wasserbad). Die abgekühlte Lösung wird mit 2 N Salzsäure neutralisiert und an einer Amberlite-XAD-Säule (30 × 2.5 cm) adsorbiert. Wasser eluiert anorganisches Salz, Solvens E eluiert Verbindung **8**, die nach Verdampfen des Lösungsmittels farblos, amorph anfällt (130 mg, 91%). Gegebenenfalls können Spuren von Chromatographieharz durch erneute Chromatographie an Kieselgel (Solvens B) entfernt werden. Nach Umkristallisation aus Dioxan fallen 129 mg (91%) farblose Nadeln vom Schmp. 170°C an. — DC (Kieselgel, Solvens B): $R_F = 0.4$. — UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 246 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10750$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 2.24$ (m, 2'-H_a), 2.78 (m, 2'-H_b), 3.40 (m, 5'-H₂), 3.80 (m, 4'-H), 3.92 (s, OCH₃), 4.40 (m, 3'-H), 4.26, 5.26 (2s, breit, OH), 6.39 (pt, 1'-H), 7.92 (s, 3H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5$ (282.3) Ber. C 46.81 H 4.99 N 19.85 Gef. C 46.80 H 5.01 N 19.92

4-Amino-(2-desoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-6-methoxy-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin (**7b**): 250 mg (0.84 mmol) **7a** werden in 60 ml konz. Ammoniak suspendiert, mit 10 ml Dioxan versetzt und im verschlossenem Kolben 24 h bei 35°C im Wasserbad aufbewahrt. Die klare Lösung wird eingedampft, der farblose Rückstand in Methanol aufgenommen, an Kieselgel adsorbiert und an einer (30 × 3 cm)-Kieselgelsäule mit Solvents A chromatographiert. Aus der Hauptzone erhält man nach Eindampfen und Umkristallisation des Rückstandes aus Wasser 145 mg (61%) farblose Nadeln vom Schmp. 172°C. — DC (Kieselgel, Solvens B): $R_F = 0.3$. — UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 264 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10600$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 2.24$ (m, 2'-H_b), 2.77 (m, 2'-H_a), 3.45 (5'-H₂), 3.80 (m, 4'-H), 3.83 (s, OCH₃), 4.41 (m, 3'-H), 4.74 (t, 5'-OH, $J = 5.8$), 5.21 (d, 3'-OH, $J = 4.4$), 6.43 (pt, 1'-H, $J = 6.5$), 7.70 (d, NH₂), 8.02 (s, 3-H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4$ (281.3) Ber. C 46.97 H 5.38 N 24.80 Gef. C 47.03 H 5.46 N 24.79

Bestimmung der Hydrolysedaten: Bei 235 nm wird der Extinktionsabfall einer Lösung von einer A₂₃₅-Einheit des Nucleosids **3** in 0.5 N Salzsäure bei 20, 25, 30 und 35°C im UV-Spektrometer bis zum Ende der Reaktion kontinuierlich verfolgt. Aus den Werten E_0 (Anfangsextinktion), E_t (Extinktion zur Zeit t), und E_∞ (Extinktion nach N-Glycosidhydrolyse) ergeben sich gemäß $k = 1/t \ln (E_0 - E_\infty)/(E_t - E_\infty)$ die Geschwindigkeitskonstanten pseudoerster Ordnung. (20°C): $k = 6.9 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$; (25°C): $k = 1.26 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$; (30°C): $k = 2.27 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$; (35°C): $k = 4.95 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$

CAS-Registry-Nummern

2b: 100605-52-5 / **3**: 100605-56-9 / **4**: 4330-21-6 / **5a**: 42754-96-1 / **5b**: 98138-75-1 / **5c**: 98277-30-6 / **5d**: 100605-51-4 / **6a**: 100605-54-7 / **6b**: 100605-53-6 / **6c**: 100605-59-2 / **7a**: 100605-55-8 / **7b**: 100605-58-1 / **8**: 100605-57-0

- ¹⁾ R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 784 (1956).
- ²⁾ V. Massey, H. Komai, G. Palmer und G. B. Elion, *J. Biol. Chem.* **245**, 2837 (1970).
- ³⁾ C. Walsh, *Tetrahedron* **38**, 871 (1982).
- ⁴⁾ G. A. Howard, A. C. McLean, G. T. Newbold, F. S. Spring und A. R. Todd, *J. Chem. Soc.* **1949**, 232.
- ⁵⁾ M. Friedkin, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 112 (1952).
- ⁶⁾ T. A. Krenitsky, G. B. Elion, R. A. Strelitz und G. H. Hitchings, *J. Biol. Chem.* **242**, 2675 (1967).
- ⁷⁾ H.-D. Winkeler und F. Seela, *Chem. Ber.* **113**, 2069 (1980).
- ⁸⁾ H.-D. Winkeler und F. Seela, *J. Org. Chem.* **48**, 3119 (1983).
- ⁹⁾ M. P. Kotick, C. Szantay und T. J. Bardos, *J. Org. Chem.* **34**, 3806 (1969).
- ¹⁰⁾ T. Kondo, T. Ohgi und T. Goto, *Agric. Biol. Chem.* **41**, 1501 (1977).
- ¹¹⁾ U. Lüpke und F. Seela, *Chem. Ber.* **112**, 3432 (1979).
- ¹²⁾ Z. Kazimierzczuk, H. B. Cottam, G. R. Revankar, R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 6379 (1984).
- ¹³⁾ F. Seela und H. Steker, *Tetrahedron Lett.* **25**, 5017 (1984).
- ¹⁴⁾ F. Seela und H. Steker, *Helv. Chim. Acta* **68**, 563 (1985).
- ¹⁵⁾ R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 6407 (1957).
- ¹⁶⁾ P. Nuhn, A. Zschunke, D. Heller und G. Wagner, *Tetrahedron* **25**, 2139 (1969).
- ¹⁷⁾ H. Rosemeyer, M. Anders und F. Seela, Nucleosides and Nucleotides, in Vorbereitung.
- ¹⁸⁾ D. Martin und H. G. Hauthal, Dimethylsulfoxid, Akademie Verlag, Berlin, 1971.
- ¹⁹⁾ R. J. Pugmire, D. M. Grant, L. B. Townsend und R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 2791 (1973).
- ²⁰⁾ D. Lichtenberg, F. Bergmann und Z. Neiman, *J. Chem. Soc. C* **1971**, 1676.
- ²¹⁾ C. Nicolau und K. Hildenbrand, *Z. Naturforsch.* **29**, Teil C, 475 (1974).
- ²²⁾ F. Seela und H. Steker, *Heterocycles* **23**, 2521 (1985).
- ²³⁾ M. Hoffer, *Chem. Ber.* **93**, 2777 (1960).
- ²⁴⁾ F. Seela, H. Driller und U. Liman, *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 312.

[211/85]