

4-Amino-7-(*rac*-2,3-dihydroxypropyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]-pyrimidin – Synthese von Acyclotubercidin

Frank Seela* und Andreas Kehne

Universität Paderborn, Fachbereich Naturwissenschaften II (Organische Chemie),
Warburger Straße 100, D-4790 Paderborn

Eingegangen am 10. Mai 1982

Durch Phasentransfer-Alkylierung des Aglycons **4a** mit dem Tosylat **5b** in Gegenwart von Tetrabutylammoniumhydrogensulfat kann regioselektiv das N-7-Verknüpfungsprodukt **6a** dargestellt werden. Wird die Reaktion in Gegenwart von Benzyltriethylammoniumchlorid als Phasentransfer-Katalysator durchgeführt, so erfolgt die Übertragung des Benzylrestes vom Katalysator auf N-7 des Heterocyclus **4a**. Das geschützte Acyclonucleosid **6a** kann nach Entschwefeln und Abspalten der Isopropyliden-Schutzgruppe in **3b** übergeführt werden. Verbindung **3b** stellt ein Isoster des antiviral wirksamen Acyclonucleosids **2** dar.

4-Amino-7-(*rac*-2,3-dihydroxypropyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine – Synthesis of Acyclotubercidin

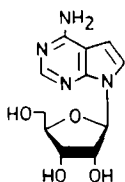
Alkylation of the aglycone **4a** with the tosylate **5b** under phase transfer conditions in the presence of tetrabutylammonium hydrogen sulfate yields regioselectively the N-7 derivative **6a**. Using benzyltriethylammonium chloride instead of the tetrabutylammonium salt as phase transfer catalyst the benzyl group of the catalyst is transferred to N-7 of the heterocycle **4a**. After desulfurization and removal of the isopropylidene protecting group compound **3b** was obtained. The latter represents an isosteric analogue of the antivirally active acyclonucleoside **2**.

Acyclonucleoside^{1,2)} besitzen statt des Ribofuranoserestes normaler Nucleoside nur Strukturelemente der Furanose, wie z.B. acyclische Seitenketten mit funktionellen Gruppen. Die Verbindungsklasse der Acyclonucleoside, zu denen z.B. 9-(2,3-Dihydroxypropyl)adenin³⁻⁵⁾ (**2**) und 9-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]guanin⁶⁾ zählen, besitzt wegen ihrer antiviralen Eigenschaften besonderes Interesse⁷⁾. Ursache für diese spezifische Wirkung ist unter anderem eine selektive Erkennung der Verbindungen durch virusinduzierte Enzyme, wie z.B. Kinasen^{8,9)} und Methylasen.

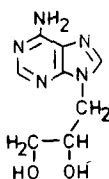
Die hohe antivirale Aktivität von **2**, es hemmt das Wachstum von Vaccinia-Viren bis zu einer Grenzkonzentration von 10 µg/ml, fällt bei struktureller Modifikation des Chromophors stark ab. Weder Verbindungen mit Guanin- noch mit Cytosin- oder Uridin-Rest zeigen eine der Adeninverbindung vergleichbare Aktivität. Auch Substitution an C-2, C-8 oder N⁶ des Adeninrestes führt zu weitgehender Unwirksamkeit⁷⁾.

Wir konnten kürzlich anhand der antiviral wirksamen 7-Desazapurinarabino-furanosyl-Nucleoside zeigen, daß der Ersatz des Adenin-Aglycons durch ein 4-Aminopyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-System günstig ist, denn dadurch wird die Desaminierung der Nucleobase und damit die Desaktivierung des Moleküls verhindert. *ara*-Tubercidin^{10,11)} ist im Gegensatz zu Ara A¹²⁾ vollkommen resistent gegenüber Adenosin-Desaminase.

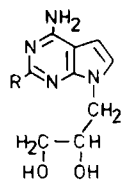
Die günstigen Eigenschaften von Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleosiden haben uns nun veranlaßt, das Acyclonucleosid **3b** zu synthetisieren, welches ein isosteres 7-Desaza-Derivat von **2** darstellt. Ausgangsverbindung für die Aglyconkomponente von **3b** war die Methylthiobase **4a**¹⁰⁾. Im Gegensatz zum Aglycon **4d** besitzt sie eine erhöhte Löslichkeit in organischen Solventien und ihr sperriger 2-Methylthioest unterdrückt Alkylierungsreaktionen an den Pyrimidinstickstoffen. Als reaktive Seitenkettenkomponente benutzten wir zuerst das Halogenderivat **5a**³⁾, dessen Hydroxygruppen durch einen Isopropylidenrest geschützt sind. Im Gegensatz zur Darstellung von **2**, dessen Chromophor bereits durch entsprechende Reste alkyliert worden war, wobei neben dem N-9- auch das N-3-alkylierte Produkt entsteht^{3,4)}, benutzten wir zur Darstellung von **6a** die Phasentransfer-Methode¹³⁾, die bereits bei Glycosylierungen regioselektiv zur N-7-Substitution führte.



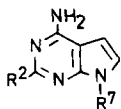
1



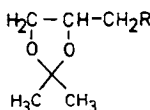
2



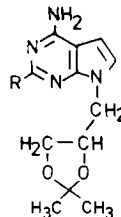
3	R
a	CH ₃ S
b	H



4	R ²	R ⁷
a	CH ₃ S	H
b	CH ₃ S	Bzl
c	CH ₃ S	CH ₃
d	H	H
e	H	CH ₃



5	R
a	Cl
b	OTos



6	R
a	CH ₃ S
b	H

Um zu prüfen, ob die Alkylierung unter Phasentransfer-Bedingungen ebenfalls regioselektiv verläuft, haben wir **4a**¹¹⁾ im zweiphasigen System CH₂Cl₂, Dimethoxyethan/50proz. Natronlauge in Gegenwart von *N*-Benzyltriethylammoniumchlorid mit Methyljodid umgesetzt und auch in guter Ausbeute das N-7-Methylderivat **4c** erhalten, dessen Konstitution nach Entschwefelung mit Raney-Nickel durch Überführung in das bereits beschriebene methylierte Aglycon **4e** bewiesen wurde¹⁴⁾. Die Darstellung von **6a** blieb unter gleichen Reaktionsbedingungen jedoch zuerst erfolglos, da die Chlorverbindung **5a**³⁾ bei Raumtemperatur zu reaktionsträge war und unter den für die Darstellung von **4c** gewählten Bedingungen das Aglycon **4a** nicht alkylierte.

Tab. 1. ^{13}C -NMR-Verschiebungen von 4-Aminopyrrol[2,3-*d*]pyrimidin-Nucleosiden und Acyclonucleosiden sowie deren Vorstufen 4, 5 in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$

Nr.	C-2	C-4	C-4a	C-5	C-6	C-7a	C-1'/ C-1	C-2'/ C-2	C-3'/ C-3	C-4'/ CH ₃ / CH ₃	C-5'/ Acetal-C	SCH ₃ / CH ₃	Aromaten-C
1	151.5	157.5	103.1	99.5	122.3	149.9	87.6	73.7	70.8	85.1	61.9		
3a	162.47	157.17	99.64	98.34	124.17	150.69	47.09	70.56	63.49			13.10	
3b	150.47	156.93	102.26	98.02	125.37	149.59	47.06	70.44	63.26				
4a ⁽¹⁾	162.54	157.04	99.60	99.08	119.55	151.53						13.21	
4b	162.79	157.02	99.49	98.99	122.70	150.50	46.89					12.89	127.16, 127.37, 128.28, 138.07
4d	151.60	157.43	102.32	98.89	120.90	150.76							
4c	162.61	157.01	99.51	98.41	123.68	150.68						12.92, 30.19	
4e ⁽¹⁴⁾	151.54	157.36	102.38	98.30	124.92	149.85						30.63	
6a	162.26	156.90	99.44	98.88	123.84	150.65	46.13	74.27	66.23	25.11/26.45	108.78	13.07	
6b	151.59	157.48	102.21	98.32	124.74	149.94	45.98	74.23	66.11	25.00/26.36	108.69		
5a							45.08	74.88	66.47	25.04/26.36	109.10		
5b ^(a)							66.33	73.06	69.52	25.09/26.55	110.15	21.46	128.13, 129.99, 133.89, 145.10
β - <i>ara</i> -Tubercidin ^(16,17)	151.3	157.3	102.3	98.5	123.8	150.0	83.2	76.0	75.6	83.5	61.3		
α - <i>ara</i> -Tubercidin ⁽¹⁸⁾	151.8	157.7	102.8	99.7	122.3	150.3	88.0	80.4	76.0	84.0	61.4		
$\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{Cl}$							46.71	71.18	65.57				

a) In CDCl_3 .

Wir haben deshalb die Phasentransfer-Reaktion statt bei Raumtemperatur unter Rückflußsieden und intensivem Mischen des zweiphasigen Systems durchgeführt. Unter diesen Bedingungen entstehen zwei Reaktionsprodukte im Verhältnis 2:3. Die im Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel; $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3 = 95:5$) langsamer wandernde Substanz konnten wir aufgrund ihrer ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten (Tab. 1) als das gewünschte **6a** identifizieren. Bei der schneller wandernden Verbindung, die ebenfalls kristallin anfiel, war der Acyclorest nicht nachzuweisen. Stattdessen enthielt sie nach ihrem Massenspektrum einen Benzylrest, der sich aufgrund UV- und ^{13}C -NMR-spektroskopischer Daten (Tab. 1) ebenfalls an N-7 befand und aus dem *N*-Benzyltriethylammoniumchlorid stammen mußte, das als Phasentransfer-Katalysator eingesetzt wurde. Denn in Abwesenheit vom Halogenderivat **5a** ließ sich die Benzylverbindung **4b** unter den genannten Reaktionsbedingungen als einziges Reaktionsprodukt nachweisen und in guter Ausbeute präparativ gewinnen.

Um die Nebenreaktion der Benzylierung zu vermeiden, setzten wir bei der Phasentransfer-Alkylierung von **4a** mit **5a** Tetrabutylammoniumhydrogensulfat als Katalysator ein und alkylierten unter den erwähnten Bedingungen. Dadurch unterblieb zwar die Benzylierung, dennoch ließ sich das geschützte Acycloderivat **6a** nur in mäßiger Ausbeute isolieren. Erst als wir das reaktivere Tosylat **5b**^{3,15}, das wir aus *rac*-Isopropylidenglycerin und Toluolsulfonylchlorid gewannen, einsetzten, entstand in 67proz. Ausbeute **6a**.

Für die Überführung von **6a** in **3a** wurde die Isopropylidenschutzgruppe mit verdünnter Säure abgespalten und das (Methylthio)acyclonucleosid **3a** erhalten. Die Abspaltung des Methylthioestes von **3a** war jedoch schwierig, da es fest am Katalysator haftete. Wir haben deshalb das lipophilere Isopropylidenderivat **6a** in Dimethylacetamid mit Raney-Nickel entschweifelt und konnten so **6b** erhalten. Von diesem ließ sich dann, ähnlich wie bei **6a**, der Isopropylidenrest mit Säure abspalten und das Acyclonucleosid **3b** kristallin isolieren.

Das Acyclonucleosid **3b** besitzt gegenüber Tubercidin ein um ca. 2 nm bathochrom verschobenes UV-Maximum, im Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel; $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$, Laufmittel C) wandert es wenig langsamer als dieses. Da **5b** als Racemat eingesetzt worden war, fiel **3b** ebenfalls racemisch an. Auf die Darstellung des *S*-Enantiomeren wurde verzichtet, da für die Adeninverbindung **2** belegt ist⁷), daß der weitgehend inaktive *R*-Antipode die Wirkung der *S*-Verbindung nicht beeinflusst. Die Konfiguration der *S*-Enantiomeren entspricht der der Ribofuranosylnucleoside, die *R*-Enantiomeren besitzen *arabino*-Konfiguration. Damit ist zu erwarten, daß **3b** in biologischen Systemen Bindungsstellen besetzen kann, die für Tubercidin zugänglich sind. Aufgrund der Teilstruktur kann **3b** jedoch nur gewisse Funktionen übernehmen, ein Befund, der sich schon beim Acyclonucleosid **2** als günstig erwiesen hat.

Wir danken Herrn Dr. H.-D. Winkeler für hilfreiche Diskussionen, der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Land Nordrhein-Westfalen und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Berl-Block (Wagner & Munz, München), nicht korrigiert. – Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Beller, Göttingen. – ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren: Bruker-WM-250-Spektrometer; δ -Werte relativ zu Tetramethylsilan. – UV-Spektren: Uvikon-810-Spektro-

meter. – Massenspektren: Varian-MAT-Gerät 311 A. – Dünnschichtchromatographie (DC): Kieselgelplatten SIL G-25 UV₂₅₄ (Macherey-Nagel, Düren); Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (230–400 ASTM) (Merck, Darmstadt). Laufmittel: A = Chloroform/Methanol (95:5), B = Chloroform/Methanol (9:1), C = Chloroform/Methanol (7:3).

4-Amino-7-methyl-2-methylthio-7H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidin (4c): 1.00 g (5.55 mmol) 4-Amino-2-methylthio-7H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidin¹⁰⁾ (**4a**) in 30 ml Dichlormethan/5 ml Ethylenglycoldimethylether werden mit 500 mg (2.19 mmol) Benzyltriethylammoniumchlorid, 0.4 ml (6.1 mmol) Methyljodid und 30 ml 50proz. NaOH versetzt und 30 min mit einem Vibromischer gemischt. Das Gemisch wird mit Wasser verdünnt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden eingengt, und der Rückstand wird aus wenig Chloroform umkristallisiert. Ausb. 580 mg (54%) farblose Kristalle mit Schmp. 241°C. – DC (Kieselgel, A): $R_F = 0.4$. – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 282, 234 \text{ nm}$ ($\epsilon = 13900, 26800$). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 2.49$ (s, SCH₃), 3.64 (s, CH₃), 6.46 (d, 5-H, $J = 4 \text{ Hz}$), 6.98 (d, 6-H, $J = 4 \text{ Hz}$), 7.04 (NH₂).

C₈H₁₀N₄S (194.3) Ber. C 49.46 H 5.19 N 28.84 S 16.50

Gef. C 49.25 H 5.23 N 28.89 S 16.61

4-Amino-7-benzyl-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (4b): 200 mg (1.11 mmol) **4a**¹⁰⁾ werden mit 546 mg (2.40 mmol) Benzyltriethylammoniumchlorid in 20 ml 50proz. NaOH und 20 ml Ethylenglycoldimethylether 5 h unter intensivem Rühren und Rückfluß gekocht. Die organische Phase wird abgetrennt, die wässrige Phase auf das dreifache Volumen verdünnt und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Die organischen Phasen werden eingengt, und der Rückstand wird aus Ethanol/*n*-Hexan kristallisiert. Ausb. 153 mg (51%) farblose Kristalle mit Schmp. 146–149°C, Sintern um 140°C. – DC (Kieselgel, A): $R_F = 0.7$. – MS: $m/e = 270$ (M⁺). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 2.46$ (s, SCH₃), 5.27 (s, CH₂), 6.50 (d, 5-H, $J = 4 \text{ Hz}$), 7.06 (d, 6-H, $J = 4 \text{ Hz}$), 7.27 (s, Phenyl-H), 7.29 (breit, NH₂).

C₁₄H₁₄N₄S (270.4) Ber. C 62.20 H 5.22 N 20.72 S 11.86

Gef. C 62.38 H 5.56 N 20.64 S 11.80

4-Amino-7-[rac-2',3'-(isopropylidendioxy)propyl]-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (6a): 500 mg (2.78 mmol) **4a**¹⁰⁾ in 30 ml Ethylenglycoldimethylether werden mit 925 mg (3.05 mmol) [rac-2,3-(Isopropylidendioxy)propyl]-*p*-toluolsulfonat¹⁵⁾, 300 mg Tetrabutylammoniumhydrogensulfat und 30 ml 50proz. NaOH 4 h unter intensivem Rühren und Rückfluß gekocht. Die organische Phase wird abgetrennt, die wässrige Phase auf das dreifache Volumen verdünnt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Einengen der organischen Phase wird in 100 ml Chloroform aufgenommen und diese Lösung mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit Na₂SO₄ getrocknet, eingengt und der Rückstand aus Ethanol kristallisiert. Ausb. 550 mg (67%) farblose Nadeln mit Schmp. 130–132°C. – DC (Kieselgel, A): $R_F = 0.33$. – MS: $m/e = 294$ (M⁺). – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 283, 235 \text{ nm}$ ($\epsilon = 15000, 26700$). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): $\delta = 1.24, 1.31$ (2s, Acetal-CH₃), 2.46 (s, SCH₃), 3.72, 3.97 (2m, 1'-H₂), 4.18 (m, 3'-H₂), 4.41 (m, 2'-H), 6.47 (d, 5-H, $J = 4 \text{ Hz}$), 7.01 (NH₂), 7.03 (d, 6-H, $J = 4 \text{ Hz}$).

C₁₃H₁₈N₄O₂S (294.4) Ber. C 53.04 H 6.16 N 19.03 S 10.89

Gef. C 53.00 H 6.21 N 18.91 S 10.95

4-Amino-7-(rac-2',3'-dihydroxypropyl)-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (3a): 100 mg (0.340 mmol) **6a** werden in 40 ml 0.1 N HCl 30 min bei 70°C gerührt. Anschließend wird eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Ammoniak-Wasser eingedampft. Umkristallisation aus Wasser führt zu 65 mg (75%) farblosen Plättchen mit Schmp. 161–164°C. – DC (Kieselgel, B): $R_F = 0.1$. – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 282, 235 \text{ nm}$ ($\epsilon = 14200, 25800$). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO):

δ = 2.45 (s, SCH₃), 3.80 (m, 2'-H), 3.96 (m, 1'-H₂), 4.20 (m, 3'-H₂), ca. 5 (2 OH), 6.44 (d, 5-H, J = 4 Hz), 7.00 (d, 6-H, J = 4 Hz), 7.05 (NH₂).

C₁₀H₁₄N₄O₂S (254.3) Ber. C 47.23 H 5.55 N 22.03 S 12.61

Gef. C 47.37 H 5.66 N 21.86 S 12.47

4-Amino-7-[rac-2',3'-(isopropylidendioxy)propyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**6b**): 750 mg (2.55 mmol) **6a** werden in 40 ml *N,N*-Dimethylacetamid (DMA) gelöst und nach Zugabe von 3 ml abgesetzter Raney-Nickel-Suspension 3 h unter Rückfluß gekocht. Der Katalysator wird über ein hartes Filter abfiltriert, das DMA i. Hochvak. entfernt und der Rückstand dreimal mit Methanol eingedampft. Ausb. 495 mg (78%) farblose Nadeln (aus Wasser) mit Schmp. 107–109°C. – DC (Kieselgel, B): R_F = 0.40. – UV (Methanol): $\lambda_{\max}$ = 272 nm (ϵ = 12500). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 1.23, 1.30 (2s, Acetal-CH₃), 3.71, 3.95 (2m, 1'-H₂), 4.23 (m, 3'-H₂), 4.41 (m, 2'-H), 6.53 (d, 5-H, J = 4 Hz), 6.95 (NH₂), 7.14 (d, 6-H, J = 4 Hz), 8.05 (s, 2-H):

C₁₂H₁₆N₄O₂ (248.3) Ber. C 58.05 H 6.50 N 22.57 Gef. C 58.07 H 6.53 N 22.74

4-Amino-7-(rac-2',3'-dihydroxypropyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**3b**): 300 mg (1.21 mmol) **6b** werden in 20 ml 0.1 N HCl 30 min bei 70°C gerührt. Nach dem Eindampfen wird zweimal mit 10 ml verdünntem Ammoniak eingedampft und der Rückstand aus Wasser kristallisiert. Ausb. 175 mg (70%) farblose Nadeln mit Schmp. 195–197°C. – DC (Kieselgel, C): R_F = 0.68. – UV (Methanol): $\lambda_{\max}$ = 272 nm (ϵ = 11500). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 3.80 (m, 2'-H), 4.00 (m, 1'-H₂), 4.31 (m, 3'-H₂), ca. 5 (2 OH), 6.55 (d, 5-H, J = 4 Hz), 7.12 (NH₂), 7.16 (d, 6-H, J = 4 Hz), 8.09 (s, 2-H).

C₉H₁₂N₄O₂ (208.2) Ber. C 51.92 H 5.81 N 26.91 Gef. C 52.04 H 5.90 N 26.83

- 1) E. De Clercq und P. F. Torrence, J. Carbohydr., Nucleosides, Nucleotides **5**, 187 (1978).
- 2) E. De Clercq, J. Descamps, P. De Somer und A. Holy, Science **200**, 563 (1978).
- 3) A. Holy, Collect. Czech. Chem. Commun. **40**, 187 (1975); **43**, 3103 (1978).
- 4) T. Seita, K. Yamauchi, M. Kinoshita und M. Imoto, Bull. Chem. Soc. Jpn. **45**, 92b (1972).
- 5) A. Holy und G. S. Ivanova, Nucleic Acids Res. **1**, 19 (1974).
- 6) H. J. Schaeffer, L. Beauchamp, P. de Miranda, G. B. Elion, D. J. Bauer und P. Collins, Nature (London) **272**, 583 (1978).
- 7) E. De Clercq und A. Holy, J. Med. Chem. **22**, 510 (1979).
- 8) J. Kará, P. Vácha und A. Holy, FEBS Lett. **107**, 187 (1979).
- 9) G. B. Elion, P. A. Furman, J. A. Fyfe, P. de Miranda, L. Beauchamp und H. J. Schaeffer, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **74**, 5716 (1977).
- 10) H.-D. Winkeler und F. Seela, Chem. Ber. **113**, 2069 (1980).
- 11) F. Seela, Q.-H. Tran-Thi und H.-D. Winkeler, Chem. Ber. **114**, 1217 (1981).
- 12) C. E. Cass in Antibiotics, Bd. V/2, S. 85 (F. E. Hahn), Springer, Berlin 1979.
- 13) E. V. Dehmlow und S. S. Dehmlow, Phase Transfer Catalysis, Monographs in Modern Chemistry, Verlag Chemie, Weinheim 1980.
- 14) F. Seela und W. Bußmann, Chem. Ber. **114**, 2056 (1981).
- 15) G. S. Ghangas und T. P. Fondy, Biochemistry **10**, 3204 (1971).
- 16) H.-D. Winkeler und F. Seela, Chem. Ber. **113**, 2069 (1980).
- 17) F. Hansske, Zuordnung gemäß Privatmitteilung.
- 18) F. Seela und H.-D. Winkeler, Angew. Chem. **93**, 105 (1981); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **20**, 97 (1981).

[76/82]