

Nucleoside, XI<sup>1)</sup>

## Synthese von Isoxanthopterin-*N*-8- $\beta$ -D-ribofuranosid — ein strukturanaloges Nucleosid des Guanosins

Helmut Schmid<sup>\*)</sup>, Margarete Schraner und Wolfgang Pfeleiderer<sup>\*</sup>

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz, D-7750 Konstanz, Postfach 733

Eingegangen am 1. März 1973

Die Ribosidierung einer Reihe von 2-Amino-4-alkoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridinen **4**–**7**, **9**, **10** und des Isoxanthopterin (**11**) nach der „Silyl-Methode“ wird beschrieben. Es entstehen als Hauptreaktionsprodukte 7-Oxo-7,8-dihydropteridin-*N*-8- $\beta$ -D-ribose, während die entsprechenden 7-Ribosyloxy-pteridine **37**–**41** nur in untergeordnetem Maße gebildet werden. Daneben läßt sich der Nachweis für die Existenz von *N*<sup>2</sup>,8-Diribosiden erbringen und im Falle von **11** sogar ein Triribosid der vermutlichen Struktur **36** in Substanz isolieren. Die Strukturen der nach chromatographischen Verfahren isolierten neuen Substanzen werden durch UV-, NMR und CD-Spektren bestimmt und gesichert.

Nucleosides, XI<sup>1)</sup>

## Synthesis of Isoxanthopterin-*N*-8- $\beta$ -D-ribofuranoside — A Structural Analog of the Nucleoside Guanosine

The ribosidation of a series of 2-amino-4-alkoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridines **4**–**7**, **9**, **10** and of isoxanthopterin (**11**) via the „silyl-method“ is described. The main reaction products are 7-oxo-7,8-dihydropteridine-*N*-8- $\beta$ -D-ribofuranosides, whereas the corresponding 7-ribosyloxy derivatives are formed in minor amounts. Evidence is given for the presence of *N*<sup>2</sup>,8-diribosides in the complex reaction mixtures, and in case of **11** a tririboside of the alleged structure **36** could be isolated as a solid. The structures of the newly synthesized compounds have been proven by u. v., n.m.r. and c.d. spectra.

Die erfolgreiche direkte *N*-8-Glycosidierung von 7-Oxo-7,8-dihydropteridinen<sup>2)</sup> nach der „Silyl-Methode“ hat uns ermutigt, als Strukturanaloges des Nucleinsäurebausteins Guanosin die Synthese des Isoxanthopterin-*N*-8- $\beta$ -D-ribofuranosids (**35**)<sup>3)</sup> in Angriff zu nehmen. Dazu erschien es uns zunächst sinnvoll, im Isoxanthopterin (**11**) die Reaktionsmöglichkeiten durch Alkylsubstitution der potentiell reaktiven Funktionen des Pyrimidinteils zu reduzieren. Neben den bekannten Ausgangssubstanzen 2-Dimethylamino-4-methoxy- (**4**)<sup>4)</sup>, 2-Amino-4-methoxy- (**5**)<sup>5)</sup>, 2-Amino-4-isopropoxy- (**6**)<sup>6)</sup> und 2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**10**)<sup>5)</sup> haben wir nach analogem Verfahren auch das 2-Amino-7-oxo-4-pentyloxy-7,8-dihydropteridin (**7**), sein *N*<sup>2</sup>-Acetylderivat (**9**) und als Modellsubstanz für Spektrenvergleiche das 2-Amino-8-methyl-7-oxo-4-pentyloxy-7,8-dihydropteridin (**8**) dargestellt.

<sup>\*)</sup> Teil der Dissertation H. Schmid, Univ. Konstanz 1971.

<sup>1)</sup> X. Mittel.: K. Harzer und W. Pfeleiderer, Helv. Chim. Acta **56**, (1973).

<sup>2)</sup> W. Pfeleiderer, D. Autenrieth und M. Schraner, Chem. Ber. **106**, 317 (1973).

<sup>3)</sup> H. Schmid, M. Schraner und W. Pfeleiderer, Angew. Chem. **83**, 972 (1971); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **10**, 930 (1971).

<sup>4)</sup> H. Rokos und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **104**, 770 (1971).

<sup>5)</sup> W. Pfeleiderer und F. Reisser, Chem. Ber. **95**, 1621 (1962).

<sup>6)</sup> W. Pfeleiderer und R. Lohrmann, Chem. Ber. **94**, 2708 (1961).

Ausgehend vom 2,4-Diamino-6-chlorpyrimidin (**1**) wurde zunächst mit Natriumpentanolat umgesetzt, sodann ohne Isolierung des 2,4-Diamino-6-pentyloxy-pyrimidins durch Behandlung mit salpetriger Säure das entsprechende 5-Nitroso-Derivat (**2**) gewonnen. Reduktion der Nitrosogruppe und Reaktion mit Glyoxylsäureäthylesterhalbacetal führt zum 5-(Äthoxycarbonylmethylenamino)-2,4-diamino-6-pentyloxy-pyrimidin (**3**), dessen Cyclisierung zu **7** durch Kochen sowohl in Natriumhydrogencarbonat als auch in Methylatlösung erreicht werden kann. Acetylierung von **7** mit Acetanhydrid/Pyridin führt zu **9**, und bei der Dimethylsulfat/Alkali-Methylierung wird **8** erhalten.

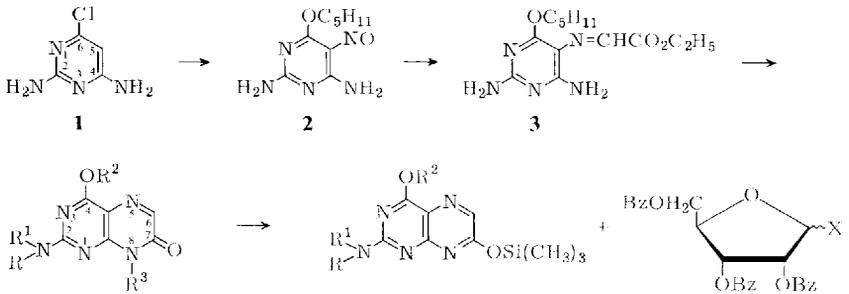
Die Silylierung der Ausgangspteridine **4–7** und **9–11** wurde wiederum durch Hexamethyldisilazan erreicht, wobei die Amidfunktion zum 7-(Trimethylsiloxy)- und die unsubstituierte Aminogruppe zum 2-(Trimethylsilylamino)-Substituenten reagiert. Im Falle von **4** verlief die Umsetzung zu **12** ungewöhnlich glatt, so daß schon nach 30 min Kochen unter Rückfluß sich am Auflösen der Substanz das Ende der Reaktion anzeigte. In den anderen Fällen waren dagegen Reaktionszeiten bis zu 2 Tagen erforderlich, um die schwerlöslichen Ausgangssubstanzen in ihre Trimethylsilyl-Derivate **13–17** zu überführen. Das Isoxanthopterin (**11**) schließlich war erst nach 64 h vollständig zum 4,7-Bis(trimethylsiloxy)-2-(trimethylsilylamino)pteridin (**18**) silyliert und ließ sich in dieser Form erstaunlicherweise, wie **13**, **15** und **16**, im Hochvakuum unzersetzt destillieren. Die Ausbeuten der als hellgelbe, zähflüssige Öle isolierten Produkte lagen durchweg bei 80–90% und höher.

Erste orientierende Glycosidierungsversuche am vorliegenden Isoxanthopterinssystem wurden mit dem vollständig blockierten 2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-(trimethylsiloxy)pteridin (**12**) als einfachstem Fall in der Weise durchgeführt, daß unter „Wittenburg-Bedingungen“<sup>7)</sup> mit 2,3,5-Tri-*O*-benzoyl-*D*-ribofuranosylbromid (**19**) bei Gegenwart der Quecksilbersalze HgO und HgBr<sub>2</sub> durch Kochen in absol. Benzol umgesetzt wurde. Die säulenchromatographische Auftrennung an Kieselgel lieferte zwei Monoriboside **21** und **37**, von denen letzteres einen etwas größeren *R<sub>F</sub>*-Wert in Chloroform/Aceton (19:1) zeigt und in 7proz. Ausbeute kristallin, das Hauptprodukt **21** jedoch nur als festes, amorphes Material in allerdings 56proz. Ausbeute erhalten werden konnte. Aus den Unterschieden in den UV-Spektren war zu erkennen, daß es sich bei den beiden isomeren Produkten nicht um  $\alpha,\beta$ -Anomere, sondern um stellungsisomere *N*-8- bzw. 7-*O*-Nucleoside handeln muß. Die genaue Zuordnung resultierte aus den Entbenzoylierungsreaktionen mittels Natriummethylat in absol. Methanol; denn **21** ging hierbei in das früher über die „Schmelzkondensation“<sup>8)</sup> zugängliche 2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-8- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (**22**)<sup>4)</sup> über, während **37** als Pteridin-*O*-glycosid unter diesen Bedingungen in einer mechanistisch noch nicht völlig geklärten Reaktion vermutlich unter Eliminierung des Kohlenhydratrestes zum 2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**4**) gespalten wird.

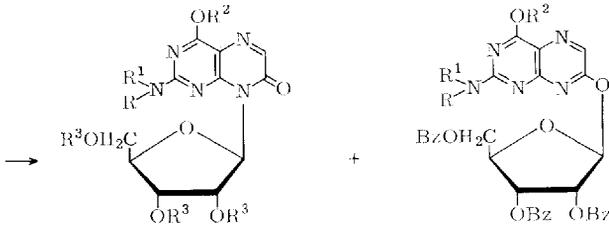
Im nächsten Schritt haben wir das 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**5**) in analoger Weise über sein Bis(trimethylsilyl)-Derivat **13** mit **19** ribosidiert, um in erster Linie Aufschluß über das Reaktionsverhalten der *N*-8-Position bei gleichzeitiger Anwesenheit einer durch den Trimethylsilylrest nur labil geschützten Aminogruppe zu

<sup>7)</sup> E. Wittenburg, Chem. Ber. **101**, 1095 (1968).

<sup>8)</sup> H. Rokos und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **104**, 748 (1971).



	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>		R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X
<b>4</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	<b>12</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>19</b> Br
<b>5</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	H	<b>13</b>	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<b>20</b> OCOCH <sub>3</sub>
<b>6</b>	H	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	<b>14</b>	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
<b>7</b>	H	H	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	<b>15</b>	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	Bz = Benzoyl
<b>8</b>	H	H	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>16</b>	H	COCH <sub>3</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	
<b>9</b>	H	CH <sub>3</sub> CO	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	<b>17</b>	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	
<b>10</b>	H	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	<b>18</b>	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	
<b>11</b>	H	H	H	H					



	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>		R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
<b>21</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO	<b>37</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>22</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	<b>38</b>	H	H	CH <sub>3</sub>
<b>23</b>	H	X	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO	<b>39</b>	H	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
<b>24</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO	<b>40</b>	H	H	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>
<b>25</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	H	<b>41</b>	H	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>26</b>	H	X	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO	<b>42</b>	H	H	H
<b>27</b>	H	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				
<b>28</b>	H	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H				
<b>29</b>	H	X	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				
<b>30</b>	H	H	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				
<b>31</b>	H	H	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H				
<b>32</b>	H	COCH <sub>3</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				
<b>33</b>	H	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				
<b>34</b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				
<b>35</b>	H	H	H	H				
<b>36</b>	H	X	X	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO				

X = 2,3,5-Tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosyl

erhalten. Laut Dünnschichtchromatogramm entstehen bei dieser Umsetzung mindestens drei fluoreszierende Reaktionsprodukte, die sich aufgrund ihrer teilweise sehr ähnlichen  $R_F$ -Werte und der Tatsache, daß auch Umwandlungsprodukte der Kohlenhydratkomponente im gleichen Bereich wandern, nur sehr schwer trennen lassen. Bei der säulenchromatographischen Separierung wird zunächst nahe der Front unumgesetzter Zucker eluiert, und nachfolgend kommt eine fluoreszierende Zone, die nach den bisherigen Erfahrungen ein Diribosid darstellen mußte. Unmittelbar danach erscheint die Hauptfraktion, die bei dieser ersten Trennung jedoch ebenso wenig rein erhalten wird wie erste Substanz. Erneute Chromatographie dieser Fraktionen auf präparativen Kieselgelplatten lieferte eine reine Hauptfraktion, die sich aufgrund ihrer Verseifbarkeit zum 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8- $\beta$ -D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (**25**) als dessen 2,3,5-Tri-*O*-benzoyl-Derivat (**24**) identifizieren ließ, während das Diribosid **23** nur weiter angereichert, aber nicht ganz analytisch rein gewonnen werden konnte. Da es bei der Entacylierung mit Natriummethylat **25** ergab, nehmen wir an, daß es sich um das 4-Methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-2-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosylamino)-7,8-dihydropteridin (**23**) handelt. Als dritte, langsamer laufende Fraktion konnte dann das 2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyloxy)pteridin (**38**) von der Säule isoliert werden. Seine Struktur basiert auf einem UV-Spektrenvergleich mit dem früher dargestellten 7-*O*-Glucosid<sup>9)</sup> und der Methylatspaltung zum 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**5**).

Als Alternative zur quecksilbersalz-katalysierten Ribosidierung haben wir **13** auch nach dem Verfahren von *Vorbrüggen*<sup>9)</sup> mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**20**) und Zinntetrachlorid in Dichloräthan bei Raumtemp. umgesetzt. Unter diesen Bedingungen bilden sich prinzipiell dieselben Reaktionsprodukte **23**, **24** und **38**, jedoch ist der prozentuale Gehalt an **23** und **38** und auch die Gesamtausbeute an **24** wesentlich geringer als beim ersten Verfahren. Der Vorteil liegt lediglich in der vereinfachten Aufarbeitung und Abtrennung von **24**.

Als weitere Pteridin-Derivate bezogen wir das 2-Amino-4-isopropoxy- (**6**) und 2-Amino-4-pentyloxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**7**) in unsere Untersuchungen ein. Wir erhofften uns bei ihnen eventuell so unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten zwischen Diribosid und *N*-8-Monoribosid, daß eine saubere Trennung beider Komponenten zu erreichen wäre. Die nach dem Quecksilbersalz-Verfahren mit **19** umgesetzten Silyl-Verbindungen **14** und **15** führen jedoch zu entsprechenden Di- und Monoribosid-Gemischen (**26** und **27** bzw. **29** und **30**), die sich präparativ und analytisch nur mit viel Mühe trennen ließen. Als weitere Komponenten findet man im Reaktionsgemisch auch wieder die entsprechenden 7-*O*- $\beta$ -D-Riboside **39** bzw. **40**. Die Methylat-Behandlung führten wir präparativ schließlich nur mit dem Gemisch **26** und **27** durch und erhielten erwartungsgemäß das 2-Amino-4-isopropoxy-7-oxo-8- $\beta$ -D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (**28**), während die 7-*O*-Glycoside **39** und **40** nur im analytischen Maßstab zur Sicherung ihrer Strukturen in die Ausgangssubstanzen **6** und **7** gespalten wurden.

Einen einheitlicheren Reaktionsverlauf bei der Glycosidierung versprochen wir uns dann vom 2-Acetamino-7-oxo-4-pentyloxy-7,8-dihydropteridin (**9**). Die Acetylierung

<sup>9)</sup> *H. Vorbrüggen* und *U. Niedballa*, *Angew. Chem.* **82**, 449 (1970); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **9**, 461 (1970).

bewirkt hierbei, daß bei der Silylierung nur das Monotrimethylsilyl-Derivat **16** gebildet wird und die Ribosidierung mit **19** keine Reaktion am 2-Substituenten anzeigt. Dies bedeutet im Hinblick auf die Synthese des Isoxanthopterin-*N*-8-nucleosids (**35**) keinen Fortschritt, da aus dem uneinheitlichen Reaktionsgemisch mittels PSC auf Kieselgelplatten nur das 2-Acetamino-7-oxo-4-pentyloxy-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (**32**) in etwa 10proz. Ausbeute rein erhältlich war. Die Struktur **32** wurde aus der Tatsache abgeleitet, daß bei seiner Methylatbehandlung und der des Gemisches **29** und **30**, wie chromatographisch nachgewiesen wurde, identische Produkte (**31**) entstehen.

Nach diesen Untersuchungen haben wir uns darum bemüht, durch Hydrolyse des Alkoxyrestes in **25** und **28** zu **35** zu kommen. Die chromatographische Verfolgung dieser Reaktionen lehrte, daß selbst nach mehrstündigem Kochen zwischen pH 3 und 12 keinerlei Hydrolyseprodukte entstehen. Erst ab pH 2 wurde partielle Hydrolyse der Alkoxygruppe und gleichzeitig auch Spaltung der glycosidischen Bindung nachgewiesen, so daß sich ein selektiver Reaktionsverlauf zu **35** nicht realisieren läßt. Im stärker alkalischen Bereich findet die gewünschte Reaktion ebenfalls nicht statt, da hier — aus der Vielzahl der Reaktionsprodukte geschlossen — der nucleophile Angriff auf die Amidfunktion bevorzugt zu sein scheint.

Auf unseren früheren Befunden<sup>5)</sup> aufbauend, übertrugen wir die gewonnenen Erfahrungen noch auf das 2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**10**), da sich hier die Benzylgruppe unter neutralen Bedingungen katalytisch abspalten läßt. Aus den Umsetzungen des 4-Benzyloxy-2-(trimethylsilylamino)-7-(trimethylsilyloxy)pteridins (**17**) mit **19** in Acetonitril bei Raumtemp. bzw. in siedendem Benzol unter Quecksilbersalz-Katalyse ließen sich aus den sehr komplexen Reaktionsgemischen durch schwierige schichtchromatographische Trennungen im ersten Falle 6% 2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (**33**) und im zweiten neben 14% **33** noch 10% 2-Amino-4-benzyloxy-7-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyloxy)pteridin (**41**) isolieren.

Beim Versuch, **33** mit Methylatlösung zu entacylieren, stellt man fest, daß gleichzeitig Substitution des Benzyloxy- gegen den Methoxyrest unter Bildung von **25** erfolgt. Spaltet man die Benzylgruppe in **33** jedoch zuerst hydrogenolytisch mit Pd/H<sub>2</sub> zum 8-(2,3,5-Tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl)isoxanthopterin (**34**) ab und entbenzoyliert anschließend, so resultiert das Isoxanthopterin-*N*-8-nucleosid **35**.

Dasselbe Produkt kann schließlich auch aus Isoxanthopterin (**11**) direkt synthetisiert werden, wenn man sein Tris(trimethylsilyl)-Derivat (**18**) in bekannter Weise mit **19** zur Reaktion bringt. Die präparative säulenchromatographische Auftrennung des Reaktionsgemisches ergab neben den in Frontnähe wandernden unumgesetzten Zuckerkomponenten zunächst ein relativ leicht eluierbares Produkt mit hohem *R<sub>F</sub>*-Wert in Chloroform/Aceton (19:1), bei dem es sich aufgrund der Elementaranalyse und dem recht niedrigen Extinktionswert der langwelligen UV-Absorptionsbande um ein Triribosid handeln muß. Da bei der Einwirkung von Methylat **35** entsteht, d. h. neben den Benzoylgruppen gleichzeitig zwei Ribosylreste abgespalten werden, erscheint bei Berücksichtigung der sterischen Verhältnisse im Molekül die Konstitution **36** am plausibelsten.

Die Hauptfraktion ließ sich von der Säule erst bei Verwendung des polareren Systems Chloroform/Methanol (9 : 1) eluieren und bestand dann aus einem Gemisch **34** und **42** mit **34** als Hauptbestandteil. Da sich die beiden Komponenten selbst durch Schichtchromatographie nicht vollständig trennen ließen, wurde das Gemisch mit Methylatlösung entbenzoyliert und das 8- $\beta$ -D-Ribofuranosyl-isoxanthopterin (**35**) durch Umkristallisieren von den aus der Spaltung von **42** stammenden geringen Beimengungen an Isoxanthopterin (**11**) befreit. Die Ausbeute an **35** betrug nach dieser Synthese 23%.

Bei der Konstitutionsermittlung der neu synthetisierten Verbindungen haben wir neben der auf der Methylat-Behandlung basierenden chemischen Festlegung die Strukturen durch verschiedene physikalische Messungen noch zusätzlich abgesichert. Für die Fixierung der Verknüpfungsstelle von Riboseresst und Aglycon leisten die UV-Spektren im Vergleich mit Modellspezstanzen wertvolle Dienste (Tab. 1).

Vor allem die Gegenüberstellung der 8-Methyl- und entacylierten *N*-8-Ribosyl-Derivate bringt die strukturelle Analogie klar zum Ausdruck, während die Anwesenheit von Benzoyl-Schutzgruppen aufgrund ihrer Eigenabsorption die kurzwelligen Banden zum Teil verfälschen (Abb. 1).

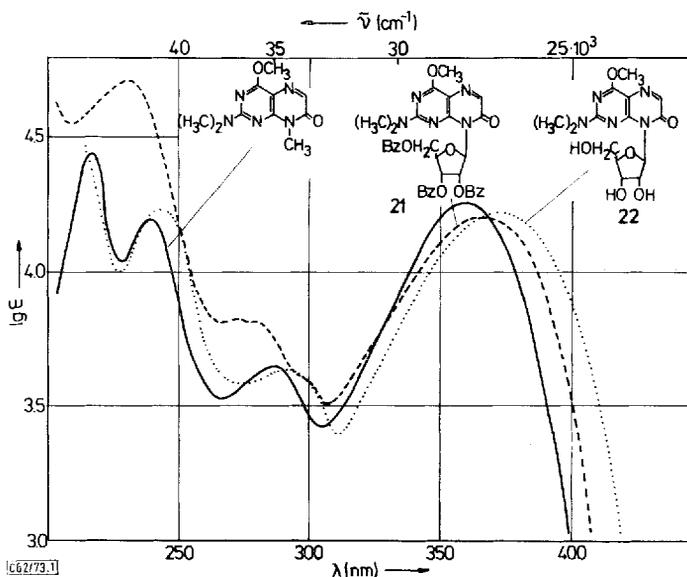


Abb. 1. UV-Absorptionsspektren der Neutramoleküle von 2-Dimethylamino-4-methoxy-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydropteridin —, **21** - - - und **22** ····· in Methanol

Eine noch weitergehende Sicherung der Konstitutionen läßt sich durch die Bestimmung der basischen bzw. aciden  $pK_a$ -Werte und durch Spektren-Vergleich von mindestens jeweils zwei reinen Molekülformen erbringen, wie dies die Beispiele 2-Amino-4-isopropoxy-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydropteridin<sup>9)</sup>, **25** und **28** bzw. 8-Methylisoxanthopterin<sup>10)</sup> und **35** zeigen (Abb. 2–4).

<sup>10)</sup> W. Pfeleiderer und M. Rukwied, Chem. Ber. **94**, 1 (1961).

Tab. 1. Physikalische Daten von Pteridin-glycosiden

	pK-Werte in H <sub>2</sub> O 20°	UV-Absorptionsspektren λ <sub>max</sub> (nm)		lg ε	pH-Wert	Molekül- art *)	
2-(Dimethylamino)-4-methoxy- 8-methyl-7-oxo-7,8-dihydro- pteridin		240	287 360	3.65 4.26	Methanol	0	
2-(Dimethylamino)-4-methoxy- 7-oxo-8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D-ribofuranosyl)- 7,8-dihydropteridin (21)		230 272	277 364	4.82 3.83	3.81 4.21	Methanol	0
2-(Dimethylamino)-4-methoxy- 7-oxo-8-β-D-ribofuranosyl- 7,8-dihydropteridin (22)		243	290 371	4.23	3.64 4.22	Methanol	0
2-Amino-4-methoxy-8-methyl- 7-oxo-7,8-dihydropteridin	0.21 ± 0.08	222	290 331	4.14	3.89 4.24	-2.0	+
2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8- (2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D- ribofuranosyl)-7,8-dihydro- pteridin (24)		[207] 230 275 350	232 279 343	4.03	3.66 4.22	4.0	0
2-Amino-4-methoxy-7-oxo- 8-β-D-ribofuranosyl-7,8- dihydropteridin (25)		211 232	280 348	4.48 4.02	3.55 4.11	Methanol	0
2-Amino-4-isopropoxy- 7-oxo-8-β-D-ribofuranosyl- 7,8-dihydropteridin (28)	-0.44 ± 0.08	217	[300] 329	4.24	[4.01] 4.20	-2.0	+
2-Amino-7-oxo-4-pentyl- 8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D- ribofuranosyl)-7,8-dihydro- pteridin (30)		230 281 350	230 281 350	4.08	3.69 4.13	4.0	0
2-Acetamino-7-oxo-4-pentyl- 8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D-ribo- furanosyl)-7,8-dihydropteridin (32)		211 232 280 349	232 280 349	4.54 4.11	3.67 4.19	Methanol	0
2-Amino-4-benzoyloxy-7-oxo- 8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D-ribo- furanosyl)-7,8-dihydropteridin (33)		222	[285] 330	4.22	[3.95] 4.17	-2.0	+
		232 281 350	232 281 350	4.07	3.66 4.18	4.0	0
		[210] 230 275 350	230 275 350	[4.58]	4.68 3.82 4.12	Methanol	0
		[207] 230 277 350	230 277 350	[4.58]	4.67 3.84 4.16	Methanol	0
		229 275 281 351	229 275 281 351	4.75 4.02	4.01 4.22	Methanol	0

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	pK-Werte in H <sub>2</sub> O 20°	$\lambda_{\max}$ (nm)	UV-Absorptionsspektren lg $\epsilon$	pH-Werte	Molekül- art *)
2-Amino-4,7-dioxo-8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-3,4,7,8-tetrahydropteridin (34)		228	4.66	3.97 4.08	Methanol 0
8-Methylisoxanthopterin	8.10	218	4.40	3.91 4.07	4.0 0
8- $\beta$ -D-Ribofuranosyl-isoxanthopterin (35)	8.1 ± 0.1	214	4.44	3.44 4.07 3.92 4.14	11.0 4.0 0
7-Oxo-8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-2-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosylamino)-4-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (36)		229	5.12	4.03 [3.53] 4.13	11.0 4.11 0
2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pteridin (37)		232	4.82	4.22 4.17	Methanol 0
2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl- <i>oxy</i> )pteridin (38)		229	4.80	4.04 4.13	Methanol 0
2-Amino-4-isopropoxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl- <i>oxy</i> )pteridin (39)		229	4.77	3.99 4.08	Methanol 0
2-Amino-4-pentyloxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl- <i>oxy</i> )pteridin (40)		229	4.76	3.92 4.04	Methanol 0
2-Amino-4-benzoyloxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl- <i>oxy</i> )pteridin (41)		230	4.78	4.07 4.12	Methanol 0
2-Amino-4-benzoyloxy-6-methyl-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pteridin (1)		230	4.78	4.11 4.11	Methanol 0

\*) + = Monokation, 0 = Neutralmolekül, -- = Monoanion, | | Schulter.

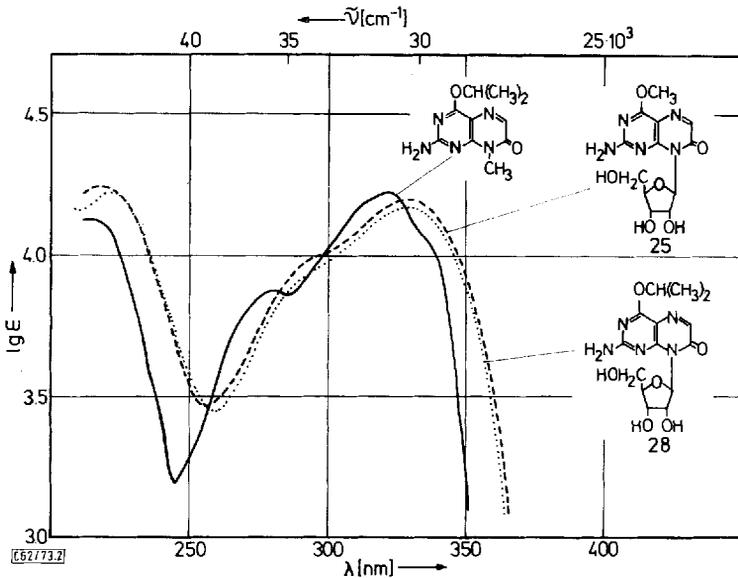


Abb. 2. UV-Absorptionsspektren der Monokationen von 2-Amino-4-isopropoxy-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydropteridin ———, 25 ——— und 28 ····· bei  $H_0 = -2$

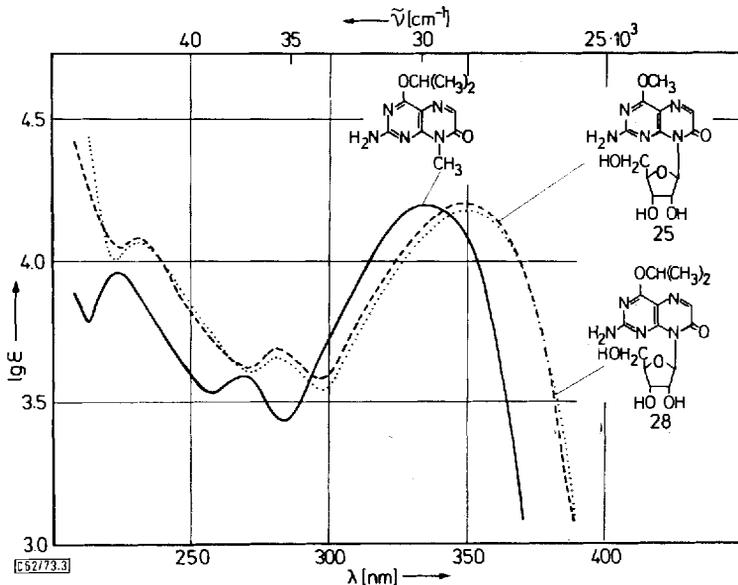


Abb. 3. UV-Absorptionsspektren der Neutalmoleküle von 2-Amino-4-isopropoxy-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydropteridin ———, 25 ——— und 28 ····· bei pH 4

Als strukturell gesichertes Bezugssystem für die 2-Amino-4-alkoxy-7-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyloxy)pteridine kann mangels der bislang unbekanntnen 2-Amino-4,7-dialkoxypteridine das 2-Amino-4-benzyloxy-6-methyl-7-(2,3,5-tri-*O*-ben-

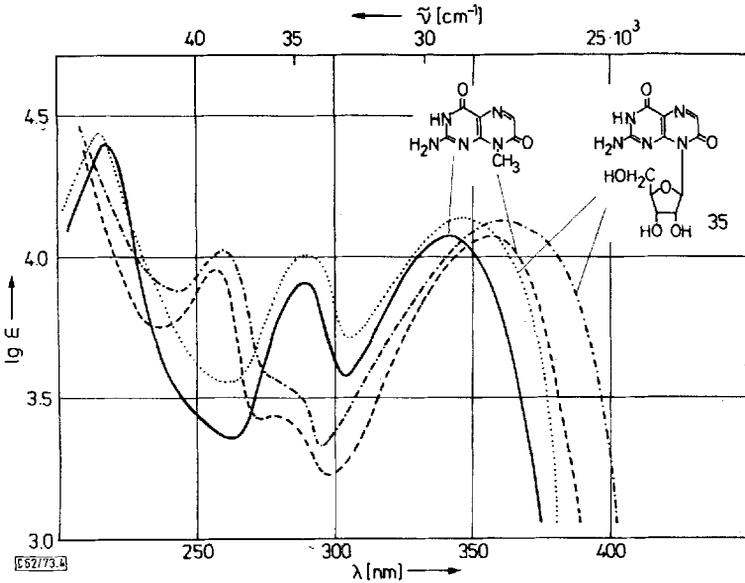


Abb. 4. UV-Absorptionsspektren der Neutralmoleküle und Monoanionen von 8-Methylxanthopterin — (pH 4.0); - - - (pH 11.0) und 35 ····· (pH 4.0); - · - · (pH 11.0)

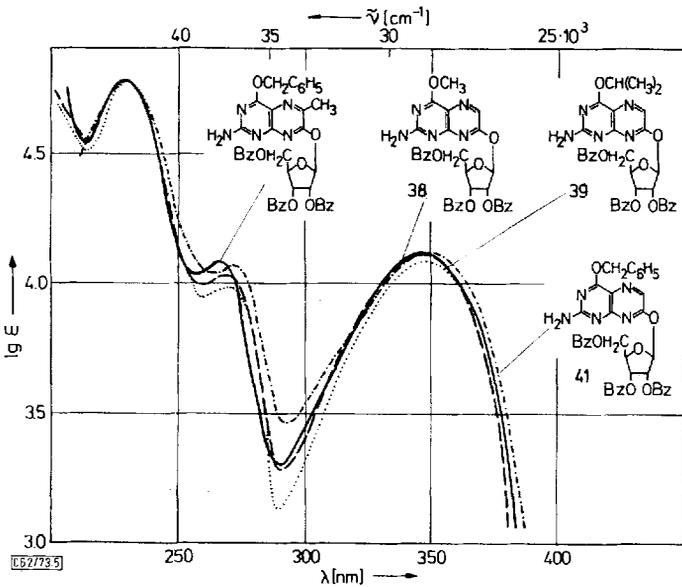
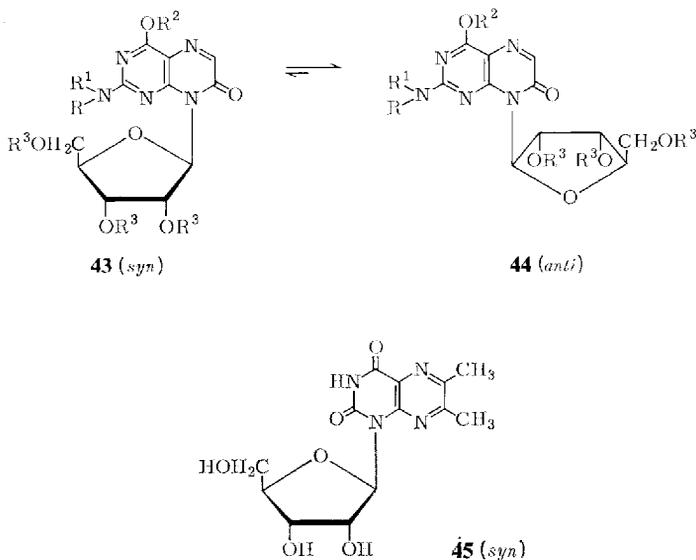


Abb. 5. UV-Absorptionsspektren der Neutralmoleküle von 2-Amino-4-benzyloxy-6-methyl-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)pteridin —, 38 - - -, 39 ····· und 41 - · - · in Methanol

zoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyloxy)pteridin<sup>11)</sup> herangezogen werden. Die sehr ähnlichen Bandenlagen und Extinktionsverhältnisse in den UV-Spektren sprechen für äquivalente Strukturen, wiewohl der gesamte Kurvenverlauf mit dem typischen tiefen Minimum bei 280–290 nm charakteristisch für die 7-O-Substitutionsprodukte dieser Reihe ist (Abb. 5).

Zur Bestätigung der  $\beta$ -Konfiguration der glycosidischen Bindungen in den Pteridin-*N*-8- bzw. -7-O-ribosiden, die aufgrund des von der *Tipson-Bakerschen* „*trans*-Regel“<sup>12,13)</sup> beherrschten Synthesepinzips zu erwarten war, zogen wir die NMR-Spektren heran (Tab. 2).

In Analogie zu früheren Befunden<sup>1,14)</sup> ist in den von uns ausgewählten und näher untersuchten benzoilylierten *N*- und *O*-Nucleosiden **21**, **24** und **30** bzw. **37–39** die Konformation des Ribofuranoseringes durch die raumerfüllenden Substituenten so günstig fixiert, daß in CDCl<sub>3</sub> die ohnehin von den Zuckerprotonen abgesetzten 1'-H-Signale immer als Singulett in Erscheinung treten und dadurch die *Karplus*-Beziehung<sup>15)</sup> einen eindeutigen Beweis für die *trans*-Anordnung der Substituenten an C-1', C-2' liefert. Da bei der Entbenzoilylierung zu den Pteridin-*N*-8-ribosiden die glycosidische Bindung unverändert bleibt, dürfte die  $\beta$ -Konfiguration dieser Nucleoside ebenfalls gesichert sein, wenngleich die in DMSO-D<sub>6</sub> aufgenommenen NMR-Spektren die anomeren Protonen erwartungsgemäß in Form von Dubletts mit den üblichen Kopplungskonstanten von  $J_{1',2'}$  3.0–3.5 Hz als Ausdruck größerer Flexibilität des Systems zu erkennen geben.



<sup>11)</sup> W. Pfeleiderer und R. Lohrmann, Chem. Ber. **95**, 738 (1962).

<sup>12)</sup> R. S. Tipson, J. Biol. Chem. **130**, 55 (1939); B. R. Baker, Ciba Foundation Symposium, Chemistry and Biology of Purines, S. 120, J. and. A. Churchill Ltd., London 1957.

<sup>13)</sup> H. G. Fletcher, Trans. New York Acad. Sci. Ser. II **30**, 649 (1968).

<sup>14)</sup> G. Ritzmann und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **106**, 1401 (1973).

<sup>15)</sup> L. D. Hall, Advan. Carbohyd. Chem. **19**, 51 (1964).

Tab. 2. NMR-Daten von Pteridin-glycosiden ( $\delta$ -Werte in ppm; TMS interner Standard; 60 MHz)

	1'-H (1)	$J_{1,2'}$ Hz	2' + 3'-H (2)	4' + 5'-H (3)	2-NH <sub>2</sub> / (2)	4-Subst. (6)	6-H (1)	Zucker- schutzgruppen (15)	3-H (1)	Lösungs- mittel
2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (21)	7.29 s	<1	6.40	4.81 m	3.2	4.11 (3)	7.86	7.45 (9) 8.05 (6)		CDCl <sub>3</sub>
2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (24)	7.09 s	<1	6.63	4.79 m	6.01	4.06 (3)		7.48 (9) 8.01 (6 + 1) <sup>a)</sup>		CDCl <sub>3</sub>
2-Amino-7-oxo-4-pentyl-8-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (30)	7.06 s	<1	6.63	4.75 m	5.93	0.89 (3) 1.4 (6) 4.42 (2)		7.41 (9) 7.92 (6 + 1) <sup>a)</sup>		CDCl <sub>3</sub>
2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pteridin (37)	7.20 s	<1	6.08	4.77 m	3.28	4.15 (3)		7.5 (9) 8.08 (6 -- 1) <sup>a)</sup>		CDCl <sub>3</sub>
2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pteridin (38)	7.06 s	<1	6.09	4.87 m	6.78	4.06 (3)	7.88	7.48 (9) 8.03 (6)		CDCl <sub>3</sub>

Tabelle 2 (Fortsetzung)

	1'-H (1)	J <sub>1',2'</sub> Hz	2'+3'-H (2)	4'+5'-H (3)	2-NH <sub>2</sub> /-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (2)	4-Subst. (6)	6-H (1)	Zucker- schutzgruppen (15)	3-H (1)	Lösungs- mittel
2-Amino-4-isopropoxy-7-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)pteridin (39)	7.16 s	<1	6.14	4.89 m	6.38	1.51 (6)d 5.62 (1)m		7.51 (9) 8.08 (6 + 1) <sup>a)</sup>		CDCl <sub>3</sub>
2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-8-β-D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (22)	6.76 d	3.5			3.21	4.03 (3)	7.69			DMSO-D <sub>6</sub>
2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8-β-D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (25)	6.73 d	3.3			7.46	4.02 (3)	7.70			DMSO-D <sub>6</sub>
2-Amino-4-isopropoxy-7-oxo-8-β-D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (28)	6.78 d	3.2			7.42	1.42 (6)d 5.53 (1)m	7.74			DMSO-D <sub>6</sub>
8-β-D-Ribofuranosyl-isoxanthopterin (35)	6.78 d	2.2			7.44		7.78		11.52	DMSO-D <sub>6</sub>

a) Das 6-H liegt unter den Phenylprotonen.  
( ) Zahl der Protonen.

Zum Problem der *syn-anti*-Konformation, d. h. der relativen Lage des Riboseringes zum Aglycon, lassen sich aus den ermittelten physikalischen Daten einige Indizien für eine Bevorzugung der *anti*-Anordnung ablesen, wobei wir die 7-Oxo-7,8-dihydropteridin-*N*-8-riboside als Strukturanaloge der Purin-nucleoside betrachten und das dort geltende Bezugssystem<sup>16)</sup> zur Anwendung bringen.

Beim 6,7-Dimethyl-1- $\beta$ -D-ribofuranosyllumazin (**45**) konnten wir durch eine Röntgenstrukturanalyse<sup>17)</sup> zeigen, daß zumindest im Kristall die *syn*-Konformation bevorzugt ist, wobei diese Fixierung vermutlich Ausdruck einer verstärkten Wechselwirkung des freien Elektronenpaares im  $sp^2$ -Orbital des *peri*-ständigen *N*-8-Atoms bei *anti*-Anordnung ist. Übertragen auf die Situation **43**  $\rightleftharpoons$  **44** würde dies bedeuten, daß vom *N*-1-Atom ein entsprechender Einfluß ausgeübt wird, der den Riboseresst zur Einnahme der *anti*-Konformation **44** zwingt. Zum selben Schluß wird man anhand der UV-Daten von **25** und **28** im Vergleich zum 2-Amino-4-methoxy-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydropteridin geführt, da die Ähnlichkeit der Kation-Spektren lehrt, daß in den Nucleosiden Protonierung an derselben Position wie in der Modellsubstanz, nämlich an *N*-1 erfolgt. Dies ist aber nur bei einer *anti*-Anordnung möglich, da mit der Protonierung gleichzeitig auch eine Umorientierung der Solvathülle in erster Sphäre zum Aglycon verbunden ist und somit auf sterische Beeinflussungen leicht anspricht. Man muß aus diesem Grunde erwarten, daß die *syn*-Konformation **43** nicht an *N*-1, sondern vielmehr an *N*-3 protoniert würde.

Aus den NMR-Spektren läßt sich ebenfalls die *anti*-Konformation ablesen, wenn man die Tieffeldverschiebung der 2' + 3'-H-Signale in **21**, **24** und **30** im Vergleich zu den 7-*O*-Ribosiden **37**--**39** als anisotrope Beeinflussung der Protonen durch den 7-Carbonylsauerstoff<sup>18)</sup> wertet.

Die in Methanol aufgenommenen CD-Spektren (Tab. 3) dürfen aufgrund des analogen Kurvenverlaufs in der Reihe der Pteridin-*N*-8-nucleoside einerseits bzw. der -7-*O*-riboside andererseits so interpretiert werden, daß in der jeweiligen Reihe Übereinstimmung in Konfiguration und Konformation gegeben sein muß.

Bemerkenswert ist, daß den CD-Spektren der 7-(Ribosyloxy)pteridine im Vergleich zu denen ihrer isomeren *N*-8-Nucleoside im langwelligen Bereich ein gewisser spiegelbildlicher Charakter zu eigen ist (Abb. 6).

Dieser Bereich kann somit Auskunft über die Verknüpfungsstelle zwischen Kohlenhydratrest und Aglycon geben, während der kurzwellige Teil des CD-Spektrums bis 250 nm möglicherweise die Information über die Konfigurationszuordnung der glycosidischen Bindung enthält. Der gleichartige Kurvenverlauf vor allem der *O*-Benzoyl-Derivate sowohl der *N*-8- als auch 7-*O*-Ribosid-Reihe in diesem Bereich mit den bei 225 bzw. 240 nm liegenden Übergängen stark negativer bzw. stark positiver Elliptizitäten darf als Indiz übereinstimmender Strukturbeziehungen gewertet werden.

<sup>16)</sup> J. Donohue und K. N. Trueblood, J. Mol. Biol. **2**, 363 (1960); D. W. Miles, L. B. Townsend, M. J. Robins, R. K. Robins, W. H. Inskip und H. Eyring, J. Am. Chem. Soc. **93**, 1600 (1971).

<sup>17)</sup> W. Saenger, G. Ritzmann und W. Pfeleiderer, Eur. J. Biochem. **29**, 440 (1972).

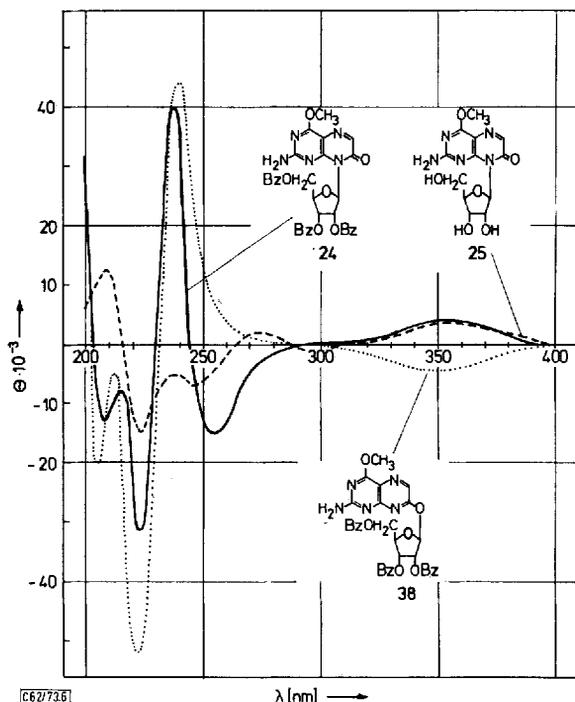
<sup>18)</sup> M. P. Schweizer, J. T. Witkowski und R. K. Robins, J. Am. Chem. Soc. **93**, 277 (1971).



Tabelle 3 (Fortsetzung)

	CD-Spektren																
	$\Theta$																
	$\lambda$ (nm)																
2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-8- $\beta$ -D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (22)	225	240	248	273	295	370	...	-25200	-6300	-8200	+1250	-2200	+3500				
2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl)- $\beta$ -D-ribofuranosylpteridin (38)	205	212	222	240	[300]	350	...	-20400	-4700	-50000	+44100	[+0]	-4400				
2-Amino-4-isopropyl-oxo-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl)- $\beta$ -D-ribofuranosylpteridin (39)	205	213	227	240	[300]	350	...	-25000	-4700	-56800	+39500	[+400]	-3800				
2-Amino-4-pentyl-oxo-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl)- $\beta$ -D-ribofuranosylpteridin (40)	205	211	225	240	[300]	350	...	-14200	-3150	-41000	+55000	[+400]	-2800				
2-Amino-4-benzyl-oxo-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl)- $\beta$ -D-ribofuranosylpteridin (41)	205	213	223	240	[300]	350	...	-25200	-3150	-55000	+39500	[+400]	-3300				
2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl)- $\beta$ -D-ribofuranosylpteridin (37)	205	213	223	240	265	285	[315]	365	...	-28500	-11000	-64500	+50500	+3000	+8000	[+0]	-4600

[ ] Schulter.



C62/736

 $\lambda$  [nm]  $\longrightarrow$ 

Abb. 6. CD-Spektren von 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (**24**) —, 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8- $\beta$ -D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (**25**) - - - und 2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyloxy)pteridin (**38**) ..... in Methanol

Für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit danken wir der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* recht herzlich. Der chem.-techn. Assistentin Frau *M. Bischler* gilt unser Dank für die Bestimmungen der physikalischen Daten.

### Experimenteller Teil

Die Aufnahmen der UV-Absorptionsspektren und CD-Spektren wurden mit Cary-Recording-Spectrometer, Modell 1115/15 bzw. 1115/60, der Firma Applied Physics Corp. und die Kernresonanzspektren mit einem 60 MHz-Gerät A 60-A der Varian Associates erhalten. Für die chromatographischen Untersuchungen wurden Dünnschichtfolien Polygram SIL G/UV<sub>254</sub> von Machery-Nagel bzw. Papier 2043 b GI der Firma Schleicher & Schüll verwendet. Die präparative Schichtchromatographie (PSC) erfolgte auf Merck Silicagel PF<sub>254</sub> in 2 mm Schichtdicke und die Säulenchromatographie mit Merck Silicagel 0.05–0.2 mm Korngröße. Die kristallinen Substanzen wurden im allgemeinen i. Vak. bei 100°C und die festen amorphen Materialien bei 40°C über Phosphorpentoxid getrocknet. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

**2,4-Diamino-5-nitroso-6-pentyl oxy pyrimidin (2)**: 4.8 g Natrium werden in 400 ml n-Pentanol gelöst, dann 29.0 g 2,4-Diamino-6-chlorpyrimidin (**1**)<sup>19)</sup> zugegeben und 16 h unter Rückfluß gekocht. Man saugt heiß vom abgeschiedenen NaCl ab, engt an der Ölpumpe ein<sup>20)</sup> und

<sup>19)</sup> W. Pfeleiderer und R. Lohrmann, Chem. Ber. **94**, 16 (1961).

<sup>20)</sup> Die Lösung der empfindlichen Substanzen engt man zweckmäßig im Rotationsverdampfer ein.

nimmt den sirupösen Rückstand in 500 ml 20proz. Essigsäure auf. Nach Erwärmen auf 70°C tropft man unter Rühren 24 g Natriumnitrit in 100 ml Wasser langsam zu, wobei sich ein rotvioletter Niederschlag abscheidet. Man läßt abkühlen, stellt mehrere h in den Eisschrank, sammelt den Niederschlag und wäscht mit kaltem Wasser. Durch Umkristallisieren aus 5 Liter Methanol erhält man 40.4 g (91%) rotviolette Nadeln vom Schmp. 220°C (Zers.).

$C_9H_{15}N_5O_2$  (225.3) Ber. C 47.99 H 6.71 N 31.09 Gef. C 48.12 H 6.70 N 30.98

5-(Äthoxycarbonylmethylenamino)-2,4-diamino-6-pentylloxypyrimidin (**3**): 3.0 g **2** werden in 200 ml Methanol mit 0.3 g 5proz. Pt auf Aktivkohle-Katalysator in der Schüttelente bei Raumtemp. hydriert. Nach etwa 1 h ist die Reduktion beendet. Man saugt vom Katalysator ab und versetzt das Filtrat mit 2.5 g Glyoxylsäureäthylester-halbacetat, wobei die zunächst farblose Lösung tiefgelb wird. Anschließend gibt man 15 ml Wasser zu, rührt 1 h bei Raumtemp. und engt dann i. Vak. unterhalb 30°C auf 50 ml ein. Der ausgefallene Niederschlag wird gesammelt, mit Äther gewaschen und aus dem Filtrat durch weiteres Einengen auf 10 ml eine zweite Fraktion isoliert. Umkristallisieren aus 90 ml Methanol mit Aktivkohle liefert 2.7 g (69%) gelbe Kristalle vom Schmp. 179–181°C.

$C_{13}H_{21}N_5O_3$  (295.3) Ber. C 52.86 H 7.17 N 23.72 Gef. C 52.66 H 7.12 N 23.97

2-Amino-7-oxo-4-pentylxy-7,8-dihydropteridin (**7**)

a) 7.4 g **3** in 1.5 Liter Äthanol werden mit 200 ml 0.5 N  $NaHCO_3$  versetzt und unter Rühren 2 h unter Rückfluß gekocht. Nach Zugabe von weiteren 50 ml 0.5 N  $NaHCO_3$  und fortgesetztem 1 stdg. Kochen wird heiß mit Aktivkohle behandelt, filtriert und das Filtrat mit Eisessig auf pH 5 eingestellt. Nach Abkühlen erhält man chromatographisch reines, gelbliches Kristallpulver in einer Ausb. von 4.0 g (62%) und mit Schmp. > 300°C.

$C_{11}H_{15}N_5O_2$  (249.3) Ber. C 53.00 H 6.07 N 28.10 Gef. C 52.88 H 5.98 N 27.99

b) 34.0 g **2** werden in 800 ml Methanol suspendiert, 10 g feuchtes Raney-Nickel zugegeben und in der Schüttelente bei Raumtemp. mit Wasserstoff hydriert. Nach 8 h ist die Reaktion beendet. Man saugt vom Katalysator ab, versetzt mit 30 g Glyoxylsäureäthylester-halbacetat und läßt zur Bildung der Schiffschen Base **3** einige Zeit stehen. Anschließend wird durch Zugabe von 1.5 g Natriummethylat und 5stdg. Kochen unter Rückfluß zu **7** cyclisiert. Die heiße Lösung wird mit Aktivkohle behandelt, nach Filtrieren mit Eisessig schwach angesäuert und dann soweit eingengt, bis Kristallabscheidung erfolgt. Nach mehrstdg. Stehenlassen im Eisschrank wird abgesaugt (18.0 g). Umkristallisieren aus 300 ml Dimethylformamid ergibt 16.8 g (45%) nahezu farbloses Kristallpulver vom Schmp. > 300°C.

$C_{11}H_{15}N_5O_2$  (249.3) Ber. C 53.00 H 6.07 N 28.10 Gef. C 52.84 H 5.98 N 28.26

2-Amino-8-methyl-7-oxo-4-pentylxy-7,8-dihydropteridin (**8**): 1.25 g **7** werden in 100 ml DMF und 20 ml 1 N NaOH bei Raumtemp. gelöst. Man tropft unter Rühren 3 ml Dimethylsulfat langsam zu und hält den pH-Wert nach Absinken durch partielles Eintropfen von 1 N NaOH oberhalb von 8. Nach beendeter Reaktion (1 h) wird zur Lösung eventuell unumgesetzten Ausgangsprodukts auf pH 13–14 gebracht und dann der unlösliche Niederschlag (0.86 g) abgesaugt. Zur Reinigung wird in 100 ml Methanol gelöst, mit Aktivkohle behandelt und nach Filtrieren in der Siedehitze bis zur beginnenden Trübung Wasser zugegeben. Beim Abkühlen scheiden sich 0.82 g (63%) farblose Kristalle vom Schmp. 179–180°C ab.

$C_{12}H_{17}N_5O_2$  (263.3) Ber. C 54.74 H 6.51 N 26.60 Gef. C 55.02 H 6.41 N 26.48

2-Acetamino-7-oxo-4-pentylxy-7,8-dihydropteridin (**9**): 2.0 g **7** werden in einem Gemisch aus 75 ml Acetanhydrid, 25 ml DMF und 5 ml Pyridin suspendiert und 30 min unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen und Filtrieren dampft man das Filtrat vollständig ein<sup>20)</sup>, nimmt in wenig heißem DMF auf und sammelt nach erneutem Abkühlen und Stehenlassen den Nieder-

schlag. Zur Reinigung wird in 100 ml DMF gelöst, mit Aktivkohle behandelt und dann in der Hitze Wasser bis zur beginnenden Trübung zugegeben. Abkühlen und Stehenlassen im Eisschrank ergibt 1.19 g (51%). Wiederholung des Reinigungsprozesses führt zu 1.04 g (45%) fast farblosen Kristallen vom Schmp. 275–277°C.

$C_{13}H_{17}N_5O_3$  (291.3) Ber. C 53.60 H 5.88 N 24.04 Gef. C 53.76 H 5.85 N 24.24

*4,7-Bis(trimethylsiloxy)-2-(trimethylsilylamino)pteridin (18)*: 5.0 g Isoxanthopterin (**11**)<sup>21)</sup> werden in 30 ml Hexamethyldisilazan (HMDS) suspendiert und nach Zugabe einiger Kristalle Ammoniumsulfat 64 h im Ölbad unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß unter Rückfluß gekocht. Man zieht das überschüss. HMDS ab und destilliert das verbleibende dunkelbraune Öl i. Hochvak. bei 200–220°C Badtemp. So werden 10.7 g (97%) hellgelber, bei Raumtemp. erstarrender Sirup vom Sdp. 155–170°C/0.001 Torr erhalten.

$C_{15}H_{29}N_5O_2Si_3$  (395.7) Ber. C 45.53 H 7.38 N 17.70 Gef. C 44.37 H 7.35 N 17.68

*2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (21)*: 0.88 g 2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**4**)<sup>4)</sup> werden in 30 ml Hexamethyldisilazan bei 160°C Badtemp. 1 h unter Rückfluß gekocht. Nach 30 min ist vollständige Lösung eingetreten. Man läßt abkühlen, wobei sich das Trimethylsilyl-Derivat **12** als farbloser Feststoff abscheidet. Ungeachtet dessen wird das überschüss. HMDS i. Vak. abgezogen und der Rückstand für die Ribosidierung eingesetzt.

Man löst gemeinsam mit 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose (**19**) (hergestellt aus 2.5 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose (**20**)<sup>22)</sup>) in 100 ml trockenem Benzol und kocht nach Zugabe von je 2 g HgO und HgBr<sub>2</sub> 6 h unter Rückfluß. Nach Abkühlen wird vom Ungelösten abgesaugt und das Filtrat zur Trockne eingengt. Das verbleibende Öl wird in 150 ml Chloroform gelöst und zur Entfernung der Quecksilbersalze dreimal mit je 200 ml 15proz. KJ-Lösung ausgeschüttelt. Die abgetrennte organische Phase wird zweimal mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Einengen<sup>20)</sup> erhält man 3.1 g Rohprodukt in Form eines gelben Schaumes.

Man löst in wenigen ml Chloroform und gibt auf eine präparative Kieselgelsäule (100 × 3 cm) auf. Zur Trennung wird im System Chloroform/Aceton (19:1) entwickelt, wobei nach unumgesetztem Zucker zunächst eine Mischfraktion (1.0 g) aus **21** und **37** (dünnschichtchromatographisch verfolgt) erhalten wird. Die zweite Fraktion ist chromatographisch einheitlich und liefert nach Einengen 1.2 g **21** als festes amorphes Produkt. Aus der dritten nachlaufenden Mischfraktion werden nach Einengen 0.2 g Substanz erhalten.

Die 1. und 3. Fraktion werden jede für sich auf präparativen Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) durch zweimalige Entwicklung mit Chloroform/Methanol (19:1) weiter aufgetrennt. Im Bereich 11.5–13 cm Laufstrecke befindet sich als Hauptzone **21**. Nach Eluieren und Einengen gewinnt man aus der 1. Fraktion 0.18 g und aus der 3. Fraktion 0.12 g. Man erhält insgesamt 1.5 g (56%) amorphes, hellgelbes Produkt vom Schmp. 84–92°C.

$C_{35}H_{31}N_5O_9$  (665.7) Ber. C 63.16 H 4.70 N 10.52 Gef. C 63.22 H 4.72 N 10.11

*2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)pteridin (37)*: Im vorstehend beschriebenen präparativen Schichtchromatogramm der Fraktion 1 befindet sich im Bereich 13.5–14.5 cm Laufstrecke eine weitere klar abgetrennte Bande, die mit Chloroform/Methanol eluiert und dann eingengt wird. Der verbleibende Sirup wird in 20 ml Methanol gelöst und mehrere Tage zur Kristallisation stehengelassen. Aus der stark hellblau fluoreszierenden Lösung scheiden sich 0.2 g (7%) gelbe Kristalle vom Schmp. 167°C ab.

$C_{35}H_{31}N_5O_9$  (665.7) Ber. C 63.16 H 4.70 N 10.52 Gef. C 63.24 H 4.57 N 10.39

<sup>21)</sup> W. Pfeiderer, Chem. Ber. **90**, 2602 (1957).

<sup>22)</sup> J. D. Stevens, R. G. Fletcher und H. G. Ness, J. Org. Chem. **33**, 1806 (1968).

2-(Dimethylamino)-4-methoxy-7-oxo-8- $\beta$ -D-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (**22**)<sup>4)</sup>: 1.2 g **21** werden in 100 ml 0.5 N Natriummethylatlösung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Danach neutralisiert man mit Eisessig, engt die Lösung ein<sup>20)</sup> und wiederholt diesen Prozeß mit jeweils 50 ml Wasser/Äthanol (1:1) noch dreimal. Der verbleibende ölige Rückstand wird in der Hitze in 5 ml Wasser/Äthanol (1:1) gelöst. Bei langsamem Abkühlen scheiden sich farblose Kristalle (0.32 g) ab. Die Mutterlauge wird weiter eingengt und das Konzentrat auf eine Kieselgelplatte 40  $\times$  20  $\times$  0.2 cm aufgetragen. Man entwickelt dreimal mit Chloroform/Methanol (9:1) über die ganze Breite und eluiert dann die Zone im Bereich 3–4.5 cm. Einengen und Umkristallisieren liefert weitere 0.06 g **22**. Ausb. 0.38 g (60%) farblose Kristalle vom Schmp. 192°C (Lit.<sup>4)</sup> Schmp. 185–187°C).

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (353.3) Ber. C 47.59 H 5.42 N 19.82 Gef. C 47.80 H 5.42 N 19.71

2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (**24**): 3.86 g 2-Amino-4-methoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**5**)<sup>5)</sup> werden in 30 ml HMDS suspendiert, mit einem Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt und dann bis zur Auflösung 48 h unter Rückfluß gekocht. Das überschüss. HMDS wird abgezogen und das verbleibende dunkelbraune Öl i. Hochvak. destilliert, wobei 6.6 g (98%) **13** als gelber Sirup vom Sdp. 150–165°C/0.001 Torr erhalten werden.

a) Man löst die Silylverbindung mit **19** (hergestellt aus 12.6 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**20**)<sup>22)</sup> in 200 ml absol. Benzol, setzt je 5 g HgO und HgBr<sub>2</sub> zu und kocht dann 6 h unter Rückfluß. Es wird von den Quecksilbersalzen abgesaugt, i. Vak. eingengt und der verbleibende Schaum in 200 ml Chloroform gelöst. Man schüttelt danach dreimal mit je 200 ml 15proz. KJ-Lösung aus, wäscht mit Wasser und trocknet die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Einengen<sup>20)</sup> liefert 14.8 g Rohprodukt in Form eines gelben Schaumes, der in wenigen ml Chloroform gelöst auf eine 60  $\times$  4.8 cm Kieselgelsäule aufgegeben wird. Die Trennung erfolgt mit Chloroform/Aceton (19:1), wobei nach Abtrennung der reinen Zuckerfraktion (erkennbar an dem nur bei 254 nm absorbierenden Fleck im DC) die schon am Tageslicht blau fluoreszierende Hauptfraktion eluiert wird. Nach Einengen dieses Eluats erhält man 5.26 g gelbes amorphes Produkt, das neben **24** als zweite Komponente noch das 4-Methoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-2-(2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosylamino)-7,8-dihydropteridin (**23**) enthält.

Es wird dann von der Säule eine Zwischenfraktion (1.5 g) eluiert, die neben **24** etwas 2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyloxy)pteridin (**38**) enthält. Man löst das Gemisch in möglichst wenig Chloroform, trägt auf drei 40  $\times$  20  $\times$  0.2 cm präparative Kieselgelplatten auf und entwickelt dreimal mit Chloroform/Aceton (19:1) über die gesamte Plattenbreite. Aus der Zone 7–12 cm erhält man nach Extraktion mit Chloroform/Methanol und Einengen 0.66 g gelbes, amorphes **24** vom Schmp. 104–112°C.

C<sub>33</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (637.6) Ber. C 62.16 H 4.27 N 10.99 Gef. C 62.13 H 4.31 N 10.03

b) 1.93 g **5** werden wie vorstehend zu 3.27 g (97%) **13** silyliert. Man löst zusammen mit 4.54 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**20**) in 70 ml Dichloräthan und rührt nach weiterer Zugabe von 1.0 g Zinntetrachlorid 16 h im Dunkeln unter Feuchtigkeitsausschluß. Die dunkelbraune Lösung wird anschließend mit methanolischem Ammoniak vorsichtig neutralisiert, wobei ein voluminöser Niederschlag sich abscheidet. Man läßt über Nacht absetzen, saugt dann über ein Kieselgurbett scharf ab und engt das Filtrat i. Vak. ein<sup>20)</sup>. Das Rohprodukt (3.4 g) wird wie vorstehend einer Säulen- und präparativen Schichtchromatographie unterworfen und liefert so 1.1 g (24%) amorphes **24** vom Schmp. 104–112°C.

Das Produkt ist chromatographisch und spektroskopisch mit der unter a) erhaltenen Substanz identisch.

**2-Amino-4-methoxy-7-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyloxy)pteridin (38):** Bei fortgesetzter Säulenchromatographie vorstehender Aufarbeitung a) erhält man eine weitere Hauptfraktion, die in erster Linie **38** enthält. Man engt ein (3.21 g) und vereinigt mit dem aus der Zone 3–5 cm der Schichtchromatographie erhaltenen Material (0.6 g). Zur weiteren Reinigung werden 0.8 g auf 4 Platten nochmals einer präparativen Schichtchromatographie in Chloroform/Aceton (19:1) unterworfen und dabei nach Extraktion der Zone 4–8 cm, Einengen und Trocknen i. Hochvak. 0.6 g hellgelbes, amorphes Material vom Schmp. 104–112°C erhalten, entspr. 22% Ausb.

$C_{33}H_{27}N_5O_9$  (637.6) Ber. C 62.16 H 4.27 N 10.99 Gef. C 62.15 H 4.32 N 9.78

**2-Amino-4-methoxy-7-oxo-8- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (25)**

a) Die erste Hauptfraktion (5.26 g) der Darstellung **24** wird ohne weitere Reinigung und Auftrennung in 500 ml 0.02 N Natriummethylat-Lösung suspendiert und 24 h bei Raumtemp. gerührt. Nach 30 min tritt klare Lösung ein und nach weiteren 15 min beginnt die Abscheidung eines feinkristallinen Niederschlags. Ohne vorherige Abtrennung des Feststoffes wird mit Eisessig neutralisiert und i. Vak. zur Trockne eingedampft<sup>20)</sup>. Dieser Prozeß wird zur Entfernung des Benzoessäureesters noch dreimal mit je 100 ml Wasser/Äthanol (1:1) wiederholt. Der Rückstand wird in 800 ml Äthanol/Wasser (2:1) gelöst, in der Hitze mit Aktivkohle behandelt und nach Filtrieren auf 600 ml eingeeengt. Beim Abkühlen, mehrtägigen Stehenlassen und Aufarbeiten der Mutterlauge erhält man zwei gleiche Fraktionen von 1.45 g (25%) hellgelben mikrokristallinen Kristallen, die sich ab 200°C dunkel verfärben und bei 260°C zersetzen.

$C_{12}H_{15}N_5O_6$  (325.3) Ber. C 44.31 H 4.65 N 21.53 Gef. C 44.21 H 4.62 N 21.36

b) 0.5 g 2-Amino-4-benzoyloxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (**33**) werden in 20 ml absol. Methanol, das 20 mg Natrium enthält, gelöst und 6 d bei Raumtemp. gerührt. Der abgeschiedene Niederschlag wird abgesaugt (0.17 g) und ergibt nach Umkristallisieren aus 65 ml Wasser 0.12 g (53%) gelbliche Kristalle, Schmp. ab 260°C beginnende Zersetzung. Das Produkt ist chromatographisch und spektroskopisch mit der Substanz nach a) identisch.

**2-Amino-4-isopropoxy-7-oxo-8- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl-7,8-dihydropteridin (28):** 1.8 g 2-Amino-4-isopropoxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**6**)<sup>6)</sup> werden in 30 ml HMDS, dem wenig Kristalle Ammoniumsulfat zugesetzt sind, durch 48stdg. Kochen unter Rückfluß zu **14** silyliert. Man zieht das überschüss. Silylierungsmittel i. Vak. ab und bringt das Rohrprodukt mit der aus 5.0 g **20** und HBr hergestellten 1-Brom-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-*D*-ribofuranose (**19**)<sup>22)</sup> in 150 ml absol. Benzol bei Gegenwart von je 2.2 g HgO und HgBr<sub>2</sub> zur Reaktion. Nach 6stdg. Kochen unter Rückfluß werden die Quecksilbersalze in üblicher Weise durch Abfiltrieren und KJ-Behandlung abgetrennt, die getrocknete Chloroformphase sodann eingeeengt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform gelöst, auf eine Kieselgelsäule 100 × 5.5 cm aufgetragen und mit Chloroform/Aceton (19:1) entwickelt. Nach Abtrennung der am raschesten wandernden Zuckerzone erhält man als erste Nucleosidfraktion ein Gemisch (1.2 g) aus **27** und dem chromatographisch etwas weiterlaufenden 4-Isopropoxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosyl)-2-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-ribofuranosylamino)-7,8-dihydropteridin (**26**) sowie noch etwas Zuckerkomponenten. Man trennt daher die 1.2 g nochmals über zwei Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) mit Chloroform/Aceton (19:1) und eluiert die Zone 5–15 cm bestehend aus **26** + **27**.

Die nächste Hauptfraktion der Säule ergibt nach Einengen 1.0 g gelben Schaum des Gemisches **26** + **27**. Die dritte Fraktion muß nach Einengen nochmals über präparative Kieselgelplatten durch dreimalige Entwicklung in Chloroform/Aceton (19:1) weiter aufgetrennt werden, wobei die Zone 11–13 cm 0.2 g Gemisch **26** + **27** enthält.

Die vereinigten Fraktionen **26** + **27** (2.2 g) werden in 100 ml 0.01 N Natriummethylat-Lösung suspendiert und 15 h bei Raumtemp. gerührt. Die nach kurzer Zeit klar gewordene Lösung wird nach beendeter Reaktion mit Essigsäure neutralisiert und zur Trockne eingengt<sup>20</sup>. Man wiederholt das Eindampfen<sup>20</sup> noch dreimal mit je 70 ml Wasser/Äthanol (1:1) und löst dann den Rückstand in 60 ml Wasser. Nach mehrtägigem Stehenlassen im Eisschrank wird der Niederschlag gesammelt (0.4 g), die Mutterlauge eingengt und der Rückstand nach Lösen in wenig Methanol und Auftragen auf zwei präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) zweimal mit Chloroform/Methanol (9:1) entwickelt. Die Zone 4–6 cm wird eluiert, eingengt (0.28 g) und dann gemeinsam mit der ersten Fraktion aus 75 ml Wasser/Aktivkohle umkristallisiert, wobei 0.57 g (20%) farblose feine Nadeln, die ab 224°C unter Dunkelfärbung sintern, erhalten werden.

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (353.3) Ber. C 47.59 H 5.42 N 19.82 Gef. C 47.81 H 5.58 N 19.85

*2-Amino-4-isopropoxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)pteridin (39)*: Bei fortgesetzter Säulenchromatographie vorstehender Aufarbeitung wird als vierte Fraktion nach Einengen überwiegend **39** erhalten (1.8 g). Man vereinigt mit der aus vorstehender schichtchromatographischer Trennung der Fraktion 3 erhaltenen Zone 6.5–9 cm (0.5 g), löst in wenig Chloroform und trägt erneut auf 6 Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) auf. Nach dreimaligem Entwickeln mit Chloroform/Aceton (19:1), Eluieren der Zone 6–11 cm, Einengen und Trocknen i. Vak. erhält man 1.3 g (24%) amorphes, gelbes Festprodukt vom Schmp. 98 bis 106°C.

C<sub>35</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (665.7) Ber. C 63.15 H 4.70 N 10.52 Gef. C 63.31 H 4.78 N 10.40

*2-Amino-7-oxo-4-pentyloxy-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (30)*: 2.5 g *2-Amino-7-oxo-4-pentyloxy-7,8-dihydropteridin (7)* werden in 30 ml HMDS unter Zusatz von einem Tropfen konz. Schwefelsäure durch 48stdg. Kochen unter Rückfluß silyliert. Man zieht das überschüss. Silylierungsmittel i. Vak. ab und erhält durch Hochvakuumdestillation bei 190–220°C Badtemp. 3.24 g (82%) **15** als hellgelbes Öl.

Die Silylverbindung wird mit der aus 6.0 g **20** hergestellten 1-Brom-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-ribofuranose (**19**)<sup>22</sup> in 200 ml Benzol vereinigt und nach Zugabe von je 2.5 g HgO und HgBr<sub>2</sub> 5 h unter Rückfluß gekocht. Die Quecksilbersalze werden in der üblichen Weise abgetrennt und das Rohgemisch durch Einengen der Chloroformphase als gelber, amorpher Schaum (4.6 g) gewonnen. Man löst in möglichst wenig Chloroform und trägt auf 10 präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) auf. Nach dreimaligem Entwickeln mit Chloroform/Aceton (19:1) wird die Zone 9–12 cm mit Chloroform/Methanol eluiert und i. Vak. eingengt<sup>20</sup>, wobei 2.6 g Sirup erhalten werden. Es wird nochmals analog schichtchromatographisch behandelt und aus der Zone 6–9 cm 0.90 g (14%) hellgelber, amorpher Feststoff vom Schmp. 84–92°C gewonnen. Das analytische Dünnschichtchromatogramm läßt erkennen, daß dem Produkt **30** noch kleine Mengen an 7-Oxo-4-pentyloxy-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-2-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosylamino)-7,8-dihydropteridin (**29**) beige-mengt sind, die selbst durch mehrmaliges Chromatographieren nicht völlig abgetrennt werden konnten. Der Gehalt an **29** spiegelt sich auch in der Elementaranalyse wider.

C<sub>37</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (693.7) Ber. C 64.04 H 5.09 N 10.10 Gef. C 65.74 H 4.82 N 8.95

*2-Amino-4-pentyloxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)pteridin (40)*: Die Zonen 4–7.2 cm vorstehender erster schichtchromatographischer Auftrennungen liefern nach Eluieren mit Chloroform/Methanol und Einengen 0.9 g amorphen Schaum. Man reinigt nochmals durch PSC auf 2 Platten durch Dreifachentwicklung mit Chloroform/Aceton (19:1) und gewinnt aus Zone 4–7.5 cm 0.4 g (6%) gelbes, amorphes Festprodukt vom Schmp. 72–81°C.

C<sub>37</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (693.7) Ber. C 64.06 H 5.09 N 10.10 Gef. C 64.06 H 5.03 N 8.26

*2-Acetamino-7-oxo-4-pentyloxy-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (32)*: 1.7 g 2-Acetamino-7-oxo-4-pentyloxy-7,8-dihydropteridin (**9**) werden in 20 ml HMDS unter Zusatz weniger Kristalle Ammoniumsulfat durch 48stdg. Kochen unter Rückfluß bei 160°C Badtemp. silyliert. Man zieht das überschüss. HMDS ab und erhält durch Hochvakuumdestillation 1.7 g (79%) **16** als hellgelben Sirup vom Sdp. 190°C/0.001 Torr.

Die Silylverbindung **16** wird mit der aus 3.0 g **20** hergestellten 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose (**19**)<sup>22</sup> in 120 ml absol. Acetonitril vereinigt und nach Zugabe von je 2 g HgO und HgBr<sub>2</sub> 4 h unter Rückfluß gekocht. Die Quecksilbersalze werden in der üblichen Weise abgetrennt und das nach Einengen der Chloroformphase erhaltene Rohprodukt (2.9 g), in wenig Chloroform gelöst, auf eine Kieselgelsäule (100 × 3 cm) gegeben. Man entwickelt mit Chloroform/Aceton (19:1) und erhält nach der ersten Zuckerfraktion aus dem Eluat der Hauptfraktion nach Einengen 1.2 g Sirup, welcher nochmals über drei präparative Kieselgelplatten im System Chloroform/Aceton (19:1) gereinigt wird. Die Zone 8–12 cm wird mit Essigester eluiert und liefert nach Einengen und Trocknen i. Vak. 0.45 g (10%) hellgelbes, amorphes Festprodukt vom Schmp. 61–70°C.

C<sub>39</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub> (735.8) Ber. C 63.67 H 5.07 N 9.52 Gef. C 63.80 H 5.00 N 9.30

*2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydropteridin (33)*

a) 2.5 g 2-Amino-4-benzyloxy-7-oxo-7,8-dihydropteridin (**10**) werden in 10 ml HMDS mit etwas festem Ammoniumsulfat als Katalysator 16 h unter Rückfluß gekocht. Das überschüss. Silylierungsmittel wird abgezogen und der Rückstand nach Lösen in 50 ml absol. Acetonitril mit einer Lösung von **19**<sup>22</sup> (hergestellt aus 5.0 g **20**) in 40 ml Acetonitril vereinigt. Man läßt 4 Wochen bei Raumtemp. stehen, versetzt dann mit etwas Methanol, engt zur Trockne ein, nimmt den Rückstand in Chloroform auf und filtriert von wenig Ungelöstem ab. Nach Einengen<sup>20</sup> hinterbleiben 3.85 g brauner Schaum, der, in wenig Chloroform gelöst, auf 15 präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) aufgetragen und dreimal mit Benzol/Chloroform/Aceton (5:4:1) entwickelt wird. Die breite Zone in der Plattenmitte mit  $R_F$  0.5–0.6 wird mit Aceton eluiert, dann eingengt und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert, wobei 0.41 g (6%) farblose Kristalle vom Schmp. 186–190°C erhalten werden.

b) 2.0 g **10** werden wie vorstehend silyliert, in 50 ml absol. Benzol gelöst und mit einer Lösung von **19**<sup>22</sup> (hergestellt aus 4.2 g **20**) in 60 ml Benzol vereinigt. Nach Zugabe von 1.8 g HgO und 3.0 g HgBr<sub>2</sub> wird unter Feuchtigkeitsausschluß 3 h unter Rückfluß gekocht. Man saugt heiß vom Ungelösten ab, läßt abkühlen und engt zur Trockne ein. Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform aufgenommen, zweimal mit je 50 ml 15proz. wäbr. KJ-Lösung und einmal mit 50 ml Wasser behandelt. Nach Trocknen der organischen Phase über Sikkon erhält man durch Einengen 4.65 g gelben Schaum. Das Rohprodukt wird wie vorstehend in Portionen von 0.3 g über aktivierte, präparative Kieselgelplatten in Benzol/Chloroform/Aceton (5:4:1) aufgetrennt. Die Hauptzone mit  $R_F$  0.5–0.6 wird mit Aceton eluiert, eingengt und dann nochmals in gleicher Weise chromatographisch gereinigt. Das Produkt wird durch Äthanolbehandlung zur Kristallisation gebracht und liefert 0.76 g (14%) chromatographisch reine Kristalle vom Schmp. 174–182°C. Umkristallisation von 0.25 g aus 60 ml Äthanol führt zu 0.11 g farblosen Kristallen vom Schmp. 193–194°C.

C<sub>39</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (713.7) Ber. C 65.63 H 4.38 N 9.81 Gef. C 66.12 H 4.52 N 9.35

*2-Amino-4-benzyloxy-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)pteridin (41)*: Durch Elution der hellblau fluoreszierenden Zone mit  $R_F$  0.3 der vorstehenden schichtchromatographischen Auftrennung erhält man 0.52 g (10%) blaßgelbe Kristalle vom Schmp. 95–105°C.

C<sub>39</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (713.7) Ber. C 65.63 H 4.38 N 9.81 Gef. C 65.88 H 4.46 N 9.69

*8-(2,3,5-Tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)isoxanthopterin (34)*: 50 mg Palladiumoxid werden in 10 ml Äthanol in der Schüttelente mit Wasserstoff bis zur Sättigung reduziert. Dann gibt man 0.22 g **33** zu und hydriert weitere 16 h bis im DC das Ausgangsmaterial verschwunden ist. Es wird mit viel Methanol verdünnt, zum Sieden erhitzt, bis der farblose Niederschlag gelöst ist und dann vom Katalysator abfiltriert. Aus dem Filtrat werden durch partielles Einengen 0.16 g (83%) farblose Kristalle vom Schmp. 257°C (Zers.) erhalten.

$C_{32}H_{25}N_5O_9$  (623.6) Ber. C 61.63 H 4.04 N 11.23 Gef. C 61.25 H 4.07 N 10.91

*8-β-D-Ribofuranosyl-isoxanthopterin (35)*

a) 0.16 g **34** werden in 20 ml absol. Methanol, das 7 mg Natrium enthält, 16 h bei Raumtemp. gerührt. Man gibt etwas Wasser zu, neutralisiert mit verd. Essigsäure und rotiert ein. Zur Entfernung des Benzoesäureesters wird noch mehrmals mit Wasser abgedampft<sup>20)</sup>. Der Rückstand wird mit Äthanol digeriert und schließlich aus Wasser umkristallisiert: 0.09 g hellgelbe Nadeln vom Schmp. > 300°C.

$C_{11}H_{13}N_5O_6 \cdot H_2O$  (329.3) Ber. C 40.12 H 4.60 N 21.27 Gef. C 39.73 H 4.92 N 21.49

b) 10.7 g 4,7-Bis(trimethylsiloxy)-2-(trimethylsilylamino)pteridin (**18**) und die aus 15.2 g **20** hergestellte 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose (**19**)<sup>22)</sup> werden in 200 ml absol. Benzol gelöst, mit je 5.3 g HgO und HgBr<sub>2</sub> versetzt und 6 h unter Rückfluß gekocht. Die Quecksilbersalze werden durch Absaugen und KJ-Behandlung in der üblichen Weise abgetrennt und nach Trocknen der Chloroformlösung zum Auftragen auf eine 65 × 5.5 cm Kieselgelsäule auf wenige ml konzentriert. Mit Chloroform/Aceton (19:1) wird solange eluiert, bis kein blau fluoreszierendes Material mehr chromatographisch nachweisbar ist. Danach wird mit Chloroform/Methanol (9:1) die Hauptfraktion von der Säule geholt. Sie liefert nach Einengen 9.5 g (54%) **34**, das durch kleinere Mengen 2-Amino-4-oxo-7-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)-3,4-dihydropteridin (**42**) verunreinigt ist. Ungeachtet dessen wird in 500 ml 0.5 N Natriummethylat-Lösung suspendiert und 16 h bei Raumtemp. gerührt. Nach 30 min tritt klare Lösung ein und bald danach beginnt die Abscheidung des Na-Salzes von **35**. Man neutralisiert nach beendeter Reaktion mit Essigsäure, engt ein<sup>20)</sup> und wiederholt diese Operation zur Entfernung des Benzoesäureesters noch dreimal mit je 100 ml Wasser/Äthanol (1:1). Der so erhaltene Rückstand (2.33 g) wird in 2.3 Liter Äthanol/Wasser (3:1) in der Hitze gelöst, mit Aktivkohle behandelt und nach Filtrieren die blau fluoreszierende Lösung auf 800 ml eingengt. Man läßt 3 d bei Raumtemp. und weitere 3 d im Kühlschrank stehen. Der Niederschlag wird gesammelt (1.73 g) und aus der Mutterlauge durch weiteres Einengen auf 150 ml eine zweite Fraktion (0.25 g) isoliert. Die 1.98 g (23%) hellgelben Kristalle zeigen keinen definierten Schmp. > 300°C, verfärben sich aber ab 240°C unter Braunfärbung.

$C_{11}H_{13}N_5O_6 \cdot H_2O$  (329.3) Ber. C 40.12 H 4.60 N 21.27 Gef. C 40.24 H 4.61 N 21.46

*7-Oxo-8-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-2-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl-amino)-4-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyloxy)-7,8-dihydropteridin (36)*: Die bei vorstehender säulenchromatographischer Auftrennung anfallende erste blau fluoreszierende Fraktion wird im Rotationsverdampfer eingengt, der Rückstand in wenig Chloroform gelöst und auf 10 präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) aufgetragen. Man entwickelt einmal mit Chloroform und zweimal mit Chloroform/Essigester (9:1). Die Zone 7–11 cm wird mit Chloroform/Methanol extrahiert, eingengt und der verbleibende Sirup (1.9 g) erneut schichtchromatographisch analog der ersten Trennung gereinigt. Aus der Zone 8–11 cm erhält man beim Eindampfen<sup>20)</sup> zunächst einen Sirup, der i. Ölpumpenvak. aufschäumt und zu 1.5 g (4%) amorphem Schaum vom Schmp. 45–52°C erstarrt.

$C_{84}H_{65}N_5O_{23}$  (1422.5) Ber. C 66.71 H 4.33 N 4.63 Gef. C 66.33 H 4.39 N 4.15