

Bevorzugte *O*-Glycosidbildung bei der Ribosidierung von 5-Methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-on

Uwe Lüpke und Frank Seela*

Universität Paderborn – Gesamthochschule, Fachbereich Naturwissenschaften II (Organische Chemie), Warburger Str. 100, D-4790 Paderborn

Eingegangen am 16. Mai 1978

6-Amino-5-(2,2-diethoxy-1-methylethyl)-2-mercaptopyrimidin-4-ol (**3a**) wurde durch Kondensation von *racem.* 2-Cyan-4,4-diethoxy-3-methylbuttersäure-ethylester (**2**) und Thioharnstoff gewonnen. Die Alkylierung von **3a** mit Dimethylsulfat führt zur Methylierung an 2-SH, wobei gleichzeitig Cyclisierung zu 5-Methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-on (**4b**) erfolgt. Verknüpft man silyliertes **4b** mit 2,3,5-Tri-*O*-acetyl-1-brom-*D*-ribofuranose in Gegenwart von Quecksilber(II)-Salzen (*Wittenburg*-Bedingungen), so entsteht das *O*-Glycosid **6a** und nicht wie bei der Reaktion von 2-Methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-on das *N*-7-Glycosid¹²⁾. Durch milde Hydrolyse von **6a** erhält man 5-Methyl-2-methylthio-4-(*D*-ribofuranosyloxy)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**6b**), dessen UV-Spektren bis pH 2 denen von 4-Methoxy-5-methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**4c**) gleichen, im stärker Sauren jedoch Glycosid-Hydrolyse anzeigen.

Favoured Formation of an *O*-Glycoside during Ribosidation of 5-Methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one

6-Amino-5-(2,2-diethoxy-1-methylethyl)-2-mercaptopyrimidin-4-ol (**3a**) has been prepared *via* condensation of *racem.* ethyl 2-cyano-4,4-diethoxy-3-methylbutyrate (**2**) and thiourea. Alkylation of **3a** at 2-SH with dimethyl sulfate is accompanied by ring closure yielding 5-methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one (**4b**). Silylation of **4b** followed by reaction with 2,3,5-tri-*O*-acetyl-1-bromo-*D*-ribofuranose in the presence of mercury(II) salts (*Wittenburg* conditions) gives the *O*-glycoside **6a** and not the *N*-7-glycoside formerly obtained during ribosidation of 2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one¹²⁾. Hydrolysis of **6a** under mild conditions leads to deacetylation giving 5-methyl-2-methylthio-4-(*D*-ribofuranosyloxy)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine (**6b**). The latter compound shows UV spectra similar to 4-methoxy-5-methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine (**4c**) down to pH 2, but at lower pH values hydrolysis of the glycosidic bond occurs.

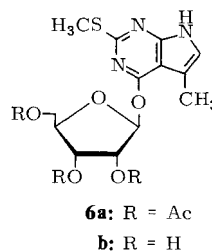
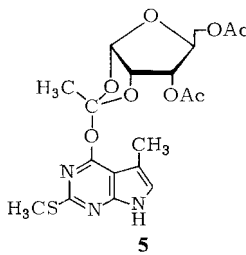
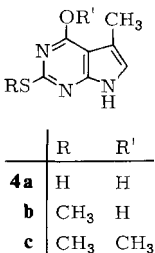
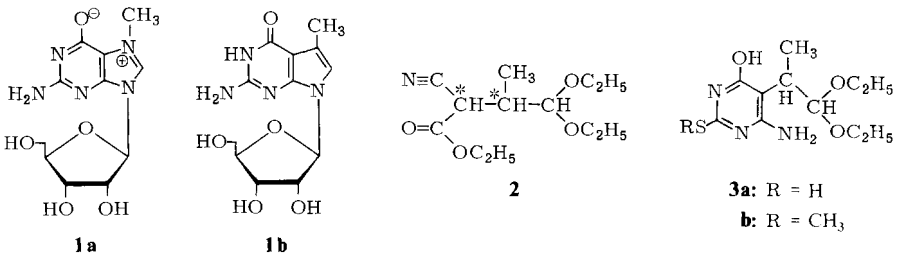
Die Ribosidierung von 7*H*-Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinen zu den entsprechenden 7-Desazanucleosiden verläuft weit unübersichtlicher als die Verknüpfung des β -*D*-Ribofuranosylrestes mit Purinen¹⁾. Die bei der Nucleosidsynthese bewährten Reaktionen wie die Fusionsmethode, d. h. die Schmelzreaktion von Aglycon und tetraacetylierter β -*D*-Ribofuranose ohne Lösungsmittel in Gegenwart eines sauren Katalysators²⁾, oder die unter Friedel-Crafts-Katalyse in aprotischen Lösungsmitteln durchgeführte Verknüpfung³⁾ liefern häufig kein Reaktionsprodukt oder aber nur niedrige Ausbeuten an ribosidiertem Chromophor. Darüber hinaus erfolgt neben der *N*-Glycosid-Verknüpfung am Pyrrolring fast immer auch eine Umsetzung an den Stickstoffatomen des Pyrimidinringes.

Uns interessieren 7-Desazanucleoside wie **1b**, die in 7-Stellung eine Methylgruppe besitzen. Die Methylgruppe an dieser Stelle führt bei den Purinnucleosiden, wie z. B. 7-Methylguanosen (**1a**), zur Ausbildung einer positiven Ladung im Imidazolring. 7-Methylpurinnucleoside besitzen durch diese Alkylierung deutlich andere Funktionen innerhalb der Proteinbiosynthese als die unmethylierten Verbindungen. So können sie am 5'-Ende einer eukariontischen Messenger-RNA als Erkennungsregion fungieren (cap)⁴⁾, oder sie verändern als seltene Nucleoside die Tertiärstruktur von Nucleinsäuren⁵⁾.

Unklar ist, ob die spezielle Funktion der 7-Methylgruppe durch deren Raumerfüllung oder durch die positive Ladung im Imidazolring hervorgerufen wird. Eine Unterscheidung zwischen Ladungs- und Raumerfüllungseffekt läßt sich treffen, wenn das Stickstoffatom N-7 durch ein Kohlenstoffatom ersetzt wird. Verbindungen dieser Art sind ihren Aza-Analogen weitgehend isoster, ihnen fehlt jedoch der ionische Charakter. Wir haben zu diesem Zweck 5-Methyl-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (**4b**) dargestellt und dessen Verknüpfung mit 1,2,3,5-Tetra-O-acetyl-β-D-ribofuranose näher untersucht; denn nach Abspaltung der Acetylgruppen vom N-7-ribosidierten Produkt und nucleophilem Austausch seines 2-Methylthio-Restes durch Amid-Ionen sollte **1b** dargestellt werden.

5-Methyl-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (**4b**) und dessen Verknüpfung mit 2,3,5-Tri-O-acetyl-1-brom-D-ribofuranose

Die Synthese der Cyanessigester-Vorstufe **2** erfolgt durch Kondensation von DL-2-Brompropionaldehyd-diethylacetal⁶⁾ mit Cyanessigsäure-ethylester in Dimethylformamid entsprechend der Darstellung von 2-Cyan-4,4-diethoxybuttersäure-ethylester⁷⁾. Nach Destillation im Hochvakuum erhält man ein klares, helles Öl in guter Reinheit, jedoch nur in einer Ausbeute von 33%. **2** enthält zwei optisch aktive C-Atome, es sollte daher als Diastereoisomerenpaar vorliegen. Die beiden Diastereoisomeren lassen sich mit Hilfe des ¹³C-NMR-Spektrums erkennen, wo die meisten Kohlenstoffatome als Doppelsignale mit annähernd gleicher Intensität auftreten.



Da bei der Synthese von Guanosin-Derivaten Methylthio-Reste an C-2 für die Ribosidierung an N-7 günstig sind, außerdem entfällt der Schutz der Aminogruppe, haben wir **2** in ethanolischer Natriumethylat-Lösung mit Thioharnstoff zur Pyrimidin-Vorstufe **3a**⁸⁾ kondensiert. **3a** ist im Gegensatz zu Verbindungen ohne α -Methylgruppe in der Seitenkette⁹⁾ recht instabil, so daß es teilweise schon beim Neutralisieren, wenn man vorübergehend in den sauren pH-Bereich gelangt, zum Pyrrolopyrimidin **4a** cyclisiert. Ebenso erfolgt der Ringschluß zu **4a** auch beim Erwärmen oder Umkristallisieren. Bewahrt man **3a** über Nacht in Eisessig (pH 5) bei 4°C auf, so cyclisiert es vollständig zu 2-Mercapto-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3H)-on (**4a**)^{10, 11)}.

Die direkte Methylierung der 2-Mercaptogruppe in **4a** ist ungünstig, da hierbei auch *N*-Methyl-Produkte entstehen. Die fast quantitative Umsetzung zur Methylthio-Verbindung **4b** gelingt jedoch bei Methylierung auf der Pyrimidin-Stufe **3a** mit Dimethylsulfat in alkalischer Lösung. Auf eine Isolierung des methylierten Pyrimidins **3b** mußte verzichtet werden, da dieses unter den Reaktionsbedingungen sofort zu **4b** cyclisiert.

Für die Synthese von 7-Desazaribonucleosiden, ausgehend von entsprechenden Aglyconen und Ribofuranosyl-Derivaten, sind mehrere Verknüpfungsmethoden bekannt, die je nach Verbindungstyp mit wechselndem Erfolg benutzt werden. Eine genaue Systematik, die die Beeinflussung der Reaktion in Abhängigkeit von der Struktur des Aglycons vorhersagt, liegt bisher nicht vor. Die Acidität des Protons an dem Stickstoff, zu dem die Glycosidbindung geknüpft werden soll, meist N-7, scheint für eine erfolgreiche Verknüpfungsreaktion von ausschlaggebender Bedeutung zu sein, denn elektronenziehende bzw. elektronenliefernde Substituenten im Pyrrolring von Pyrrolopyrimidinen beeinflussen Ausbeute und Ribosidierungsposition stark.

Nach Untersuchungen von *Townsend* und *Tolman*¹²⁾ sollte das Verfahren von *Wittenburg*¹³⁾ für die Verknüpfung von silyliertem Chromophor und 2,3,5-Tri-*O*-acetyl-1-brom-D-ribofuranose in wasserfreiem Lösungsmittel bei Gegenwart von Quecksilbersalzen am günstigsten sein. Dieses Verfahren wurde für die Ribosidierung von 2-Methylthio-7H-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3H)-on benutzt, wo in einer Ausbeute von über 60% das an N-7 verknüpfte Nucleosid entstehen soll¹²⁾. Die *Wittenburg*-Reaktion liefert, bedingt durch den Nachbargruppeneffekt und den elektronischen Einfluß der 2'-*O*-Acetylgruppe im intermediär gebildeten Acetoxonium-Ion¹⁴⁾ fast ausschließlich Nucleoside mit β -Konfiguration am anomeren Kohlenstoff.

Im vorliegenden Fall wird **4b** in Hexamethyldisilazan (HMDS) erhitzt, bis das Aglycon gelöst ist. Überschüssiges HMDS wird abgedampft und silyliertes **4b** ohne weitere Reinigung in die Ribosidierungsreaktion eingesetzt. Parallel dazu wird 2,3,5-Tri-*O*-acetyl-1-brom-D-ribofuranose aus 1,2,3,5-Tetra-*O*-acetyl- β -D-ribofuranose und Bromwasserstoff in Dichlormethan hergestellt. Quecksilber(II)-bromid und gelbes Quecksilber(II)-oxid werden in äquimolarer Menge in Benzol vorgelegt; silyliertes **4b** und 2,3,5-Tri-*O*-acetyl-1-brom-D-ribofuranose werden in jeweils gleichem Volumen Benzol gelöst und zu obiger Lösung gegeben. Bei Ausschluß von Feuchtigkeit erhitzt man 15 h unter Rückfluß. Nach Abtrennen der Quecksilbersalze und nicht umgesetztem Ausgangsmaterial wird das Nucleosid-Gemisch an einer Kieselgel-Säule chromatographiert. Die Hauptzone, der nur geringe Mengen weiterer Verbindungen und restliches Ausgangsprodukt folgen, wird abgetrennt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels kristallisieren feine Nadeln langsam aus wenig Methanol.

Bei längerem Aufbewahren in methanolischer oder schwach alkalischer Lösung ist das Glycosidierungsprodukt nicht stabil; es kommt, wie das Dünnschicht-Chromatogramm zeigt, zur schrittweisen Abspaltung der Acetylgruppen, und darüber hinaus kann auch wieder Ausgangsmaterial **4b** in geringen Mengen nachgewiesen werden.

Auffällig ist bei dem Glycosidierungsprodukt das um 20 nm bathochrom verschobene kurzwellige UV-Absorptionsmaximum. Diese Verschiebung deutet auf eine *O*-Glycosid-Bildung hin, da im Falle einer *N*-glycosidischen Bindung an N-7 nur eine geringe Veränderung des UV-Spektrums erwartet werden kann.

Im ^1H - und im ^{13}C -NMR-Spektrum des Reaktionsproduktes fällt die ungewöhnliche Lage des 1'-Signals auf, das verglichen mit *N*-Glycosiden wie Tubercidin^{10,15)} zu tiefem Feld verschoben ist. Im ^1H -NMR-Spektrum ist das 1'-H-Signal eines *N*-Glycosids um $\delta = 6$ zu erwarten, wird jedoch bei $\delta = 6.63$ beobachtet; im ^{13}C -NMR-Spektrum liegt das C-1'-Signal bei $\delta = 99.21$, nicht aber im Bereich von $\delta = 80 - 90$ wie bei *N*-Glycosiden. Darüber hinaus erfahren die einem alkylierten/glycosidierten N-Atom in α - bzw. β -Stellung benachbarten C-Atom im ^{13}C -NMR-Spektrum charakteristische Verschiebungen¹⁶⁾. Diese werden jedoch hier nicht beobachtet, denn die ^{13}C -NMR-Signale des ribosidierten Chromophors liegen an ähnlicher Stelle wie die des Aglycons **4b**.

Da auch der Fehling-Test positiv verläuft, ist aus diesen Befunden zu schließen, daß sich, bedingt durch den Einfluß der 5-Methylgruppe, ein *O*-Glycosid gebildet hat und nicht, wie erwartet, eine *N*-glycosidische Bindung geknüpft wird. Denkbar wäre zunächst sowohl die Bildung des Orthoesters **5**¹⁴⁾, als auch des *O*-Glycosids **6a**, die sich in ihren Elementaranalysen nicht unterscheiden. Gegen die Bildung von **5** spricht die Verwendung von Quecksilber-Katalysatoren¹⁴⁾. Nach Entacetylierung unterscheiden sich die Verbindungen auch in ihrer Brutto-Zusammensetzung, so daß eine Struktur-Zuordnung mit Hilfe der Elementaranalyse möglich ist.

Aufgrund der Lage der Carbonyl-Signale, die im ^{13}C -NMR-Spektrum zusammenfallen, läßt sich die Konstitution **5** ausschließen, denn das Signal des sp^3 -hybridisierten C-Atoms des Orthoesters muß bei weit höherer Feldstärke liegen als das der 2'-Acetylgruppe. Gerade auf die damit verbundenen Winkeländerungen spricht die chemische Verschiebung der ^{13}C -Resonanzsignale stark an. Beobachtet werden jedoch drei Carbonyl-Signale der Acetylgruppen um $\delta = 169$, der gleichen chemischen Verschiebung wie z. B. bei 2',3',5'-Tri-*O*-acetylguanosin.

Im Gegensatz zum 2-Methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-on¹²⁾, wo lediglich Ausbeuten von unter 10% an *O*-ribosidiertem Produkt erhalten werden, kommt es bei der Ribosidierung des 5-Methyl-Derivats **4b** zu einer Umkehrung der Ausbeuteverhältnisse. Es entsteht überwiegend das *O*-Ribosid **6a**, während weitere stickstoffverknüpfte Nucleoside nur in geringer Menge nachzuweisen sind. Der elektronenliefernde Einfluß der Methylgruppe im Pyrrolring setzt offenbar die Acidität des Protons an N-7 soweit herab, daß eine Abtrennung dieses Protons unter *Wittenburg*-Bedingungen nicht mehr erfolgt und die Reaktion auf eine nucleophilere Stelle ausweicht.

Zur Absicherung der Konstitution **6** wurde die 4-Methoxy-Verbindung **4c** dargestellt. Dies geschieht durch Umsetzung von **4b** mit Phosphoroxidtrichlorid zu 4-Chlor-5-methyl-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin. Der 4-Chlor-Substituent wird mit Natriummethylat gegen Methoxyl ausgetauscht und **4c** in 75proz. Ausbeute isoliert¹¹⁾.

Beim Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten der Verbindung **4c** mit dem Ribosid **6** treten alle Signale des Pyrrolopyrimidin-Chromophors von **4c** sowohl im ^1H - als auch im ^{13}C -NMR-Spektrum an gleicher Stelle wie bei **6** auf.

Auch im UV-Absorptionsspektrum unterscheiden sich **4c** und **6** nur wenig (Abb.), während die Verbindung **4b** ein deutlich anderes Absorptionsspektrum besitzt. Übereinstimmung zwischen **4c** und **6** wird bei den pH-abhängigen UV-Spektren beobachtet. **4c** und **6b** zeigen gleiche Absorption im alkalischen, neutralen und schwach sauren Bereich. Lediglich im stärker Säuren (etwa ab pH 2) kommt es zu Unterschieden, die sich dadurch erklären lassen, daß **4c** hier nur protoniert wird, während es bei **6b** schon zu einer Spaltung der *O*-glycosidischen Bindung kommt. Das UV-Spektrum nähert sich hier dem des Aglycons **4b** bei gleichem pH-Wert an. Diese Säure-Labilität ist ein weiterer Indikator für das Vorliegen eines *O*-Ribosids, da die *N*-glycosidische Bindung auch noch bei höheren Säurekonzentrationen stabil sein sollte.

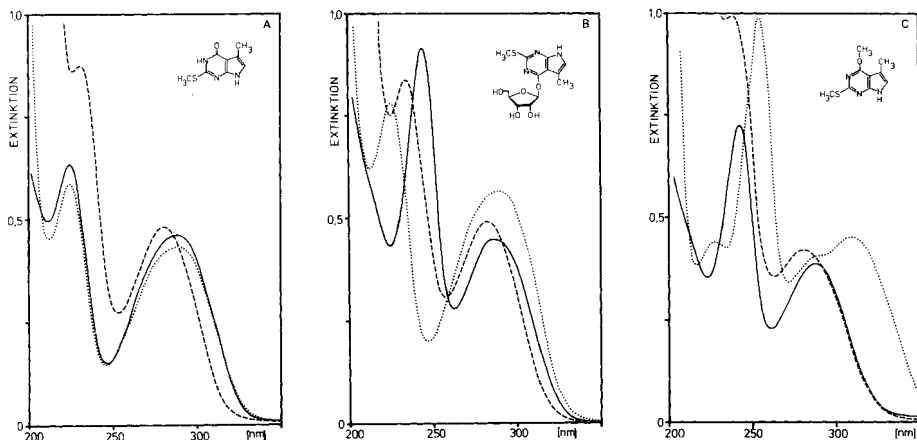


Abb.: UV-Spektren von **4b** (A), **6b** (B) und **4c** (C) in Wasser bei pH 1 (·····), pH 7 (—) und pH 13 (---)

Herrn B. Seeger, Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abt. Chemie, Göttingen, danken wir für die Aufnahme der NMR-Spektren und dem Institut für die Unterstützung bei dieser Arbeit. Sie wurde aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: SMP 20 Schmelzpunktgerät (Büchi, Schweiz); die Werte sind nicht korrigiert. — Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Beller, Göttingen. — ^1H - bzw. ^{13}C -NMR-Spektren: Bruker HX 60- und Bruker WH 270-, sowie Varian EM 360-Spektrometer (Tetramethylsilan als innerer Standard). — UV-Spektren: Zeiss PMQ 3- bzw. Shimadzu UV-200-Spektrophotometer.

Chromatographie: Zur Säulenchromatographie wurden Merck Kieselgel 60 (70–230 bzw. 230–400 mesh ASTM) sowie ein ISCO-Fraktionssammler mit UV-Monitor UA-5 bzw. LKB-Fraktionssammler mit Uvicord II verwendet. Analytische Dünnschicht-Chromatographie wurde an Kieselgel-Dünnschichtplatten F-254 (Woelm, Eschwege) oder Cellulose-F-Fertigplatten (Merck, Darmstadt) ausgeführt; als Substanznachweis diente die UV_{254} -Absorption.

Als Lösungsmittelsysteme für die Dünnschicht-Chromatographie wurden LS I (0.25 M wäßriges Lithiumchlorid) und LS II (Chloroform/Methanol, 95:5) benutzt.

DL-2-Brompropionaldehyd-diethylacetal: 50 ml (1 mol) Brom in 100 ml Essigsäure-ethylester werden in 3 h zu einer Lösung von 58 g (1 mol) Propionaldehyd und 300 ml Essigsäure-ethylester bei -5 bis 0°C unter Rühren zugegeben. Das Gemisch wird in 500 ml absol. Ethanol gegossen und bei Raumtemp. 18 h stehengelassen. Ca. 500 ml des Lösungsmittels werden bei $\approx 70^{\circ}\text{C}$ abgedampft; die zurückbleibende Lösung wird zu 300 g Kaliumcarbonat in 300 ml Wasser gegeben. Das sich ausscheidende Öl wird sofort abgetrennt, mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Acetal wird i. Vak. über eine kleine Vigreuxkolonne destilliert. 116.2 g (55%) einer farblosen Flüssigkeit vom Sdp. $60^{\circ}\text{C}/5$ Torr (Lit.⁶⁾ $67^{\circ}\text{C}/13$ Torr); $n_D^{20} = 1.4405$.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.23$ (t, 2 Acetal- CH_3 , $J = 7$ Hz), 1.67 (d, CH_3 , $J = 7$ Hz), 3.66 (m, 2 Acetal- CH_2), 4.10 (q, BrCH, $J = 6$ Hz), 4.47 (d, CH-Acetal, $J = 5$ Hz). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 14.81$ (Acetal- CH_3), 19.85 (CH_3), 48.93 (BrCH), 62.43, 62.86 (Acetal- CH_2), 104.00 (CH-Acetal).

racem. 2-Cyan-4,4-diethoxy-3-methylbuttersäure-ethylester (2): 24.0 g (1 mol) Natriumhydrid werden unter wasserfreien Bedingungen portionsweise zu 113.1 g (1 mol) Cyanessigsäure-ethylester in 625 ml Dimethylformamid gegeben, wobei die Temp. 80°C nicht überschreiten soll. Dann versetzt man bei 60°C mit 211.1 g (1 mol) 2-Brompropionaldehyd-diethylacetal, erhitzt unter Rühren 1 h auf 125°C und anschließend weitere 2 h auf 60°C . Nach dem Abkühlen wird das braune, gallertartige Produkt in Wasser gelöst und sofort mehrmals mit Ether ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden vereinigt, einmal mit Wasser gegengeschüttelt und über Na_2SO_4 getrocknet. Der Ether wird abgedampft und der Rückstand über eine Vigreuxkolonne i. Hochvak. destilliert. 80.3 g (33%) einer schwach gelblichen Flüssigkeit vom Sdp. $101^{\circ}\text{C}/0.1$ Torr; $n_D^{20} = 1.4325$ (Lit.⁷⁾ $96-104^{\circ}\text{C}/0.5-1$ Torr; $n_D^{20} = 1.4276$.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.12$ (d, CH_3 , $J = 7$ Hz), 1.23 (t, Acetal- CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 1.33 (t, Ester- CH_3 , $J = 7$ Hz), um 2.55 (m, 3-CH), 3.6 (q, Acetal- CH_2 , $J = 6$ Hz), 3.9 (d, 2-CH, $J = 4$ Hz), 4.12 (d, 4-CH, $J = 5.5$ Hz), 4.37 (q, Ester- CH_2 , $J = 7$ Hz). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 11.64$ (CH_3), 13.51 (Ester- CH_3), 14.46, 14.69, 14.81, 14.93 (Acetal- CH_3), 37.10 (C-2), 39.34, 40.48 (C-3), 61.21, 61.42, 61.82, 61.91 (Acetal- CH_2), 62.58, 63.48 (Ester- CH_2), 103.27, 103.89 (C-4), 115.29, 115.60 (CN), 165.48, 165.78 (C-1).

$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (243.3) Ber. C 59.24 H 8.70 N 5.76 Gef. C 59.27 H 8.85 N 5.72

6-Amino-5-(2,2-diethoxy-1-methylethyl)-2-mercaptopyrimidin-4-ol (3a): 1.0 g (43 mmol) Natrium wird in 50 ml absol. Ethanol gelöst und mit 3.25 g (43 mmol) Thioharnstoff sowie 9.15 g (37.5 mmol) **2** versetzt und 3 h unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird abgedampft und der schaumige Rückstand mit 250 ml Wasser aufgenommen. Unter Rühren wird langsam mit Eisessig bis pH 7 neutralisiert und einige Stunden stehengelassen. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. 8.0 g (78%) farblose Kristalle, die bis 320°C nicht schmelzen. DC (Kieselgel, LS I): $R_F = 0.45$.

UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} = 240$ (Schulter), 287 nm ($\epsilon = 7500, 19600$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 0.93$ (d, CH_3 , $J = 7$ Hz), 1.12 (t, 2 Acetal- CH_3 , $J = 7$ Hz), 2.81 (m, CH), um 3.4 (m, 2 Acetal- CH_2), 4.88 (d, CH-Acetal, $J = 7$ Hz), 6.12 (s, NH_2), 11.25 und 11.50 (OH und SH). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 13.73$ (CH_3), 15.22 (2 Acetal- CH_3), 33.03 (CH), 61.13 und 61.78 (2 Acetal- CH_2), 91.31 (C-5), 103.61 (CH-Acetal), 150.95 (C-6), 161.18 (C-4), 172.65 (C-2).

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ (273.4) Ber. C 48.33 H 7.01 N 15.37 S 11.73

Gef. C 48.51 H 6.97 N 15.37 S 11.78

2-Mercapto-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (4a): 0.8 g (34.5 mmol) Natrium werden in 55 ml absol. Ethanol eingetragen und die Lösung mit 2.6 g (34 mmol) Thioharnstoff und 7.5 g (30 mmol) **2** versetzt. Man kocht 3 h unter Rückfluß, gießt in 100 ml Eiswasser, säuert mit Eisessig bis pH 5 an und läßt das Reaktionsprodukt über Nacht bei 4°C auskristallisieren. Aus Methanol/Wasser 5.6 g (82%) gelbliche Nadeln, die bis 340°C nicht schmelzen. DC (Kieselgel, LS I): $R_F = 0.80$ ^{10, 11}.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 242, 302 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8600, 18300$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 2.19$ (s, CH_3), 6.47 (s, 6-H), 10.85 (s, 1H, breit), 11.70 (s, 1H, breit). — $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 10.41$ (CH_3), 101.28 (C-9), 114.46 (C-5), 115.15 (C-6), 138.18 (C-8), 158.16 (C-4), 171.72 (C-2).

$\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3\text{OS}$ (181.2) Ber. C 46.39 H 3.89 N 23.19 S 17.69
Gef. C 46.38 H 4.16 N 22.89 S 17.52

5-Methyl-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (**4b**): 5.47 g (20 mmol) **3a** werden in 50 ml 0.5 N NaOH gelöst und mit 2 ml (21 mmol) Dimethylsulfat versetzt. Bei Raumtemp. wird 2 h gerührt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Methanol/Wasser kristallisiert. 4.9 g (86%) farblose Nadeln vom Schmp. 278 °C. DC (Kieselgel): LS I: $R_F = 0.24$; LS II: $R_F = 0.43$.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 223, 287 \text{ nm}$ ($\epsilon = 16200, 10100$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 2.23$ (s, 5- CH_3), 2.49 (s, SCH_3), 6.60 (s, 6-H), 11.30 und 11.80 (2 NH). — $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 11.07$ (5- CH_3), 12.76 (SCH_3), 103.29 (C-9), 113.46 (C-5), 116.31 (C-6), 148.17 (C-8), 153.93 (C-2), 159.57 (C-4).

$\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{OS}$ (195.2) Ber. C 49.21 H 4.65 N 21.52 S 16.42
Gef. C 49.35 H 4.61 N 21.38 S 16.34

*5-Methyl-2-methylthio-4-(2,3,5-tri-*O*-acetyl-*D*-ribofuranosyloxy)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin* (**6a**): 2.23 g (12 mmol) **4b** werden in 50 ml Hexamethyldisilazan (HMDS) 18 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abdampfen von überschüssigem HMDS wird silyliertes **4b** ohne weitere Reinigung benutzt und in 60 ml wasserfreiem Benzol gelöst. 4.1 g (12 mmol) 1,2,3,5-Tetra-*O*-acetyl- β -*D*-ribofuranose werden bei -40 °C in 30 ml Dichlormethan gelöst und mit dem gleichen Volumen Dichlormethan versetzt, das zuvor durch Einleiten von Bromwasserstoff bei dieser Temp. gesättigt wurde. Man erwärmt langsam auf 0 °C, dampft das Lösungsmittel ab und viermal mit je 30 ml Toluol nach, um restlichen Bromwasserstoff zu entfernen.

In 60 ml wasserfreiem Benzol werden 3.04 g (14 mmol) gelbes Quecksilber(II)-oxid und 4.8 g (13.2 mmol) Quecksilber(II)-bromid vorgelegt, durch Abdestillieren von wenigen ml Benzol wird restliches Wasser ausgeschleppt. Man versetzt mit dem in Benzol gelösten, silylierten **4b** und der in 60 ml Benzol gelösten 2,3,5-Tri-*O*-acetyl-1-brom-*D*-ribofuranose und erhitzt bei Ausschluß von Feuchtigkeit 15 h unter Rückfluß. Nach dem Abkühlen werden die Quecksilbersalze abfiltriert und mit Chloroform gewaschen. Das Filtrat wird mit 25 ml Methanol und 10 ml Wasser versetzt, 1 h im Wasserbad erwärmt und i. Vak. abgedampft. Der Rückstand wird mit Chloroform extrahiert, bis die Extrakte farblos sind, um von nicht umgesetztem **4b** abzutrennen. Die Extrakte werden vereinigt, auf wenige ml eingengt und an einer Kieselgel-Säule (45.0 \times 3.0 cm) mit Chloroform/Methanol (99.5:0.5) chromatographiert. Die Hauptzone wird abgetrennt und muß ggf. ein weiteres Mal an Kieselgel chromatographiert werden. Nach längerem Stehenlassen in wenig Methanol kristallisieren mehr als 2.5 g (46%) **6a** in feinen, farblosen Nadeln vom Schmp. 144 °C. DC (Kieselgel, LS II): $R_F = 0.73$.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 244, 284 \text{ nm}$ ($\epsilon = 23450, 10400$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 1.90, 2.08$ und 2.17 (s, 3 Acetyl- CH_3), 2.33 (s, 5- CH_3), 2.51 (s, SCH_3), um 4.3 (5'-H, 4'-H), um 5.4 (m, 2'-H, 3'-H), 6.63 (s, 1'-H), 6.97 (m, 6-H), um 11.6 (breit, NH). — $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 11.07$ (5- CH_3), 13.53 (SCH_3), 20.20 (3 \times Acetyl- CH_3), 63.20 (C-5'), 70.46 (C-2'), 73.95 (C-3'), 78.94 (C-4'), 99.21 (C-1'), 101.48 (C-9), 108.86 (C-5), 120.65 (C-6), 154.00 (C-8), 159.82 (C-2), 161.64 (C-4), 169.28, 169.47 und 169.86 (3 \times Acetyl-C).

$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ (453.5) Ber. C 50.32 H 5.11 N 9.27 S 7.07
Gef. C 50.26 H 5.22 N 9.30 S 7.09

5-Methyl-2-methylthio-4-(D-ribofuranosyloxy)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**6b**): 600 mg (1.3 mmol) **6a** werden in 50 ml Methanol gelöst und mit wenigen ml konz. Ammoniaklösung versetzt.

Die Abspaltung der Acetylgruppen wird chromatographisch verfolgt (Kieselgel, LS II). Anschließend wird abgedampft, restliches Ammoniumacetat i. Hochvak. sublimiert und aus Methanol/Wasser kristallisiert. Farblose Kristalle, die um 250 °C unter Zers. schmelzen. DC (Kieselgel): LS I: $R_F = 0.66$; LS II: $R_F = 0.16$; (Cellulose, LS I): $R_F = 0.26$.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 243, 284 \text{ nm}$ ($\epsilon = 20300, 9500$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 2.25$ (d, 5- CH_3 , $J = 1 \text{ Hz}$), 2.50 (s, SCH_3), 4.00 (m, 5'-H), 4.67 (t, 4'-H, $J = 5 \text{ Hz}$), 4.98 (d, 3'-H, $J = 6 \text{ Hz}$), 5.35 (d, 2'-H, $J = 4 \text{ Hz}$), 6.46 (s, 1'-H), 6.88 (s, breit, 6-H), um 12.2 (breit, NH).

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (327.4) Ber. C 47.70 H 5.23 N 12.84 S 9.79

Gef. C 47.91 H 5.23 N 12.62 S 9.85

4-Chlor-5-methyl-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin: 2.0 g (10.2 mmol) **4b** werden mit 20 ml Phosphoroxidtrichlorid und 2 ml *N,N*-Dimethylanilin 40 min unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch in Eiswasser gegeben, 60 min bei Raumtemp. gerührt und mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknen und Einengen kristallisieren aus Benzol 1.9 g (90%) farblose Nadeln vom Schmp. 225 °C (Lit.¹¹) 211–212 °C). DC (Kieselgel, LS II): $R_F = 0.72$.

$^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 11.14$ (CH_3), 13.73 (SCH_3), 109.25 (C-5), 112.36 (C-9), 124.08 (C-6), 150.56 (C-8), 153.15 (C-2), 162.48 (C-4).

4-Methoxy-5-methyl-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**4c**): 1.0 g (4.68 mmol) vorstehender 4-Chlorverbindung wird in 65 ml 0.5 N Natriummethylat 36 h unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird abfiltriert und aus Methanol umkristallisiert. 740 mg (75.6%) farblose Prismen vom Schmp. 224 °C (Lit.¹¹) 181–183 °C). DC (Kieselgel, LS II): $R_F = 0.84$.

UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 240, 285 \text{ nm}$ ($\epsilon = 20300, 10600$). — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 2.28$ (s, 5- CH_3), 2.53 (s, SCH_3), 4.00 (s, OCH_3), 6.89 (m, 6-H), um 11.5 (breit, NH). — $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 11.40$ (5- CH_3), 13.60 (SCH_3), 53.23 (OCH_3), 101.41 (C-9), 109.12 (C-5), 119.61 (C-6), 153.41 (C-8), 161.90 (C-2), 162.74 (C-4).

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{OS}$ (209.3) Ber. C 51.65 H 5.29 N 20.08 S 15.32

Gef. C 51.49 H 5.21 N 20.25 S 15.11

Literatur

- ¹ J. Davoll, B. Lythgoe und A. R. Todd, J. Chem. Soc. **1948**, 967, 1685.
- ² T. Sato, T. Simadate und Y. Ishido, J. Chem. Soc. Jpn., Pure Chem. Sec. (Nippon Kagaku Zasshi) **81**, 1440, 1442 (1960) [Chem. Abstr. **56**, 11692 g (1962)].
- ³ Y. Furukawa und M. Honjo, Chem. Pharm. Bull. **16**, 1076 (1968).
- ⁴ A. J. Shatkin, Cell **9**, 645 (1976); B. Griffin, Nature (London) **263**, 188 (1976).
- ⁵ F. Nau, Biochimie **58**, 629 (1976); F. M. Rottmann, Tibs **1976**, 217.
- ⁶ A. H. Williams und F. N. Woodward, J. Chem. Soc. **1948**, 38.
- ⁷ Wellcome Foundation Ltd. (Erf. R. A. West und G. H. Hitchings), Brit. Pat. 812, 366 (Apr. 22, 1959) [Chem. Abstr. **54**, 592 i (1960)]; K. Ohkuma, J. Antibiot., Ser. A **14**, 343 (1961).
- ⁸ R. A. West, J. Org. Chem. **26**, 4959 (1961).
- ⁹ F. Seela und U. Lüpke, Chem. Ber. **110**, 1462 (1977); F. Seela und R. Richter, Chem. Ber. **111**, 2925 (1978).
- ¹⁰ U. Lüpke und F. Seela, Z. Naturforsch., Teil B **32**, 958 (1977).
- ¹¹ T. Kondo, T. Ohgi und T. Goto, Agric. Biol. Chem. **41**, 1501 (1977).
- ¹² R. L. Tolman, Dissertation, University of Utah 1969; R. L. Tolman, G. L. Tolman, R. K. Robins und L. B. Townsend, J. Heterocycl. Chem. **7**, 799 (1970).
- ¹³ E. Wittenburg, Chem. Ber. **101**, 1095 (1968).
- ¹⁴ K. Igarashi, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **34**, 243 (1977).
- ¹⁵ M.-T. Chenon, R. J. Pugmire, D. M. Grant, R. P. Panzica und L. B. Townsend, J. Am. Chem. Soc. **97**, 4627 (1975).
- ¹⁶ P. Dea, G. R. Revankar, R. L. Tolman, R. K. Robins und M. P. Schweizer, J. Org. Chem. **39**, 3226 (1974); R. A. Earl, R. J. Pugmire, G. R. Revankar und L. B. Townsend, J. Org. Chem. **40**, 1822 (1975).