

Nucleoside, XXXII¹⁾

Über die Ribosidierung des 7-Oxo-7,8-dihydrolumazins und seines 6-Methyl- und 6-Phenyl-Derivates

Götz Ritzmann, Leonidas Kiriasis und Wolfgang Pfeleiderer*

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz,
Postfach 5560, D-7750 Konstanz

Eingegangen am 23. Juli 1979

7-Oxo-7,8-dihydrolumazin (**1**), sein 6-Methyl-(**2**) und 6-Phenyl-Derivat (**3**) werden in Form ihrer Trimethylsilyl-Derivate **6–8** Ribosidierungsreaktionen unterworfen. 2,3,5-Tri-*O*-benzoyl-1-brom-D-ribofuranose (**9**) führt unter Hg-Salz-Katalyse zu den entsprechenden *N*-1-Mono-(**11–13**) und *N*-1,*N*-3-Diribosiden (**17–19**), während mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**10**) und SnCl₄ die *N*-3-Nucleoside **23–25** gebildet werden. Eine *N*-8-Substitution wird nicht beobachtet. Entbenzoylierungen führen zu den freien Nucleosiden **14–16**, **22** und **26–28**. Die Verbindungen werden durch UV- und NMR-Spektren sowie p*K*-Werte charakterisiert.

Nucleosides, XXXII¹⁾

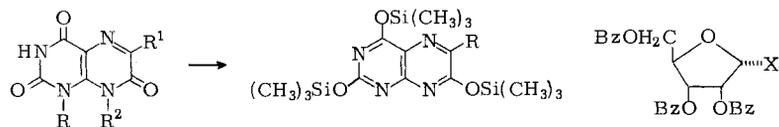
Ribosylations of 7-Oxo-7,8-dihydrolumazine and its 6-Methyl- and 6-Phenyl Derivatives

Ribosylation reactions of 7-oxo-7,8-dihydrolumazine (**1**) and its 6-methyl- (**2**) and 6-phenyl derivative, respectively, are described. Treatment of the trimethylsilyl derivatives **6–8** with 2,3,5-tri-*O*-benzoyl-1-bromo-D-ribofuranose (**9**) in the presence of Hg-salts leads to mixtures of the corresponding *N*-1-mono- (**11–13**) and *N*-1,*N*-3-diribosides (**17–19**), whereas the analogous reaction with 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**10**) and SnCl₄ gave *N*-3-nucleosides (**23–25**). *N*-8-Substitution has not been observed. On debenzoylations the free nucleosides **14–16**, **22**, and **26–28** are formed. The structures of the newly synthesized compounds have been established by UV- and NMR spectra as well as p*K* determinations.

Die erfolgreichen Glycosidierungsreaktionen am Lumazin-System^{2–5)} haben gelehrt, daß die Trimethylsilyl-Derivate in einer modifizierten *Hilbert-Johnson-Birkofer*-Reaktion unter polaren Bedingungen entsprechend der Dissoziationssequenz der aciden H-Atome im Ausgangsprodukt vorwiegend zu einer *N*-1-Substitution führen. In diesem Zusammenhang interessierte nun, inwieweit ein analoges Reaktionsverhalten beim 7-Oxo-7,8-dihydrolumazin (**1**) sowie seinem 6-Methyl-(**2**) und 6-Phenyl-Derivat (**3**) vorliegt und ob gemäß der Dissoziationsreihenfolge der beweglichen Protonen im Basismolekül **1**⁶⁾ eine gezielte Steuerung des eintretenden Ribosylrestes in die Positionen 8, 1 bzw. 3 möglich ist.

1, **2** und **3** wurden zunächst nach bekannter Methode mit Hexamethyldisilazan in die 2,4,7-Tris(trimethylsilyloxy)pteridine **6–8** übergeführt, von denen **6** und **7** im Hochvakuum destilliert und **8** sublimiert werden können. Die Konstitutionen der Trimethyl-

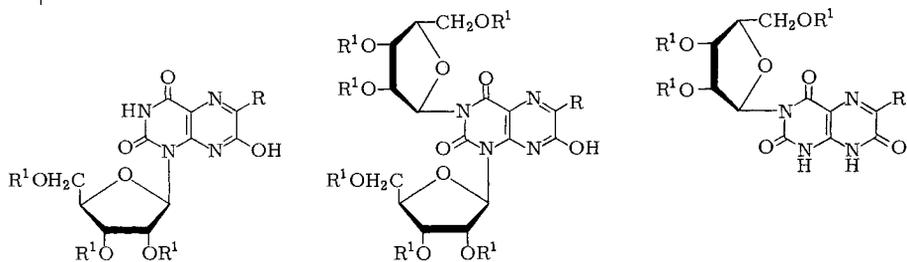
silyl-Derivate entsprechen einander und sind durch NMR-Spektren, die die richtige Integration für 3 Trimethylsilyl-Gruppen zeigen, sowie IR-Spektren, die im Doppelbindungsbereich keine Banden über 1600 cm^{-1} aufweisen, gesichert.



	R	R ¹	R ²
1	H	H	H
2	H	CH ₃	H
3	H	C ₆ H ₅	H
4	CH ₃	C ₆ H ₅	H
5	H	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅

	R
6	H
7	CH ₃
8	C ₆ H ₅

	X
9	Br
10	OAc



	R	R ¹
11	H	Bz
12	CH ₃	Bz
13	C ₆ H ₅	Bz
14	H	H
15	CH ₃	H
16	C ₆ H ₅	H

	R	R ¹
17	H	Bz
18	CH ₃	Bz
19	C ₆ H ₅	Bz
20	H	H
21	CH ₃	H
22	C ₆ H ₅	H

	R	R ¹
23	H	Bz
24	CH ₃	Bz
25	C ₆ H ₅	Bz
26	H	H
27	CH ₃	H
28	C ₆ H ₅	H

Bei den Umsetzungen von **6–8** mit 2,3,5-Tri-*O*-benzoyl-1-brom-D-ribofuranose (**9**) in siedendem Benzol in Gegenwart von HgO/HgBr₂ als Katalysatoren⁷⁾ erhält man jeweils zwei Hauptreaktionsprodukte, die als die *N*-1-Mono- (**11–13**) und *N*-1,*N*-3-Diriboside (**17–19**) identifiziert werden konnten. Ihre Trennung und Isolierung gelang durch präparative Dickschicht- bzw. Säulenchromatographie an Kieselgel. Es ist interessant, daß infolge der hohen Acidität diese Verbindungen zunächst in Form ihrer Monokaliumsalze anfallen, woraus die freien Nucleoside durch Behandlung mit etherischer HCl und Abtrennung des KCl gewonnen werden können.

Analoge Ribosidierungen mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranose (**10**) und SnCl₄ als Katalysator nach *Vorbrüggen*⁸⁾ in Benzol oder Dichlorethan lieferten wiederum jeweils 2 Produkte, diesmal jedoch neben den bekannten Diribosiden **17–19** nicht die *N*-1- sondern die isomeren *N*-3-Monoriboside **23–25**. Wir müssen annehmen,

daß unter diesen Bedingungen der starke Komplexbildner SnCl_4 in **6**–**8** die Positionen 1 und 8 blockiert und somit das N-3-Atom im ersten Schritt zum nucleophilsten Zentrum der Molekel wird.

Da in beiden Fällen kein *N*-8-Ribosid gefunden werden konnte, haben wir die Ribosidierungsbedingungen noch weiter variiert, ohne jedoch das gewünschte Ziel zu erreichen. Mit AlCl_3 als Katalysator erhält man bei der Umsetzung von **7** mit **10** in Dichloroethan die beiden Mono- **12** und **24** sowie das Diribosid **18** im Gemisch. Auch beim Zusammenschmelzen von **8** mit **10** in Gegenwart von ZnCl_2 als Lewis-Säure wird neben den drei bekannten Ribosiden **13**, **19** und **25** kein weiteres Reaktionsprodukt nachgewiesen, das für eine *N*-8-Substitution spräche. Um schließlich die Möglichkeit einer Komplexbildung in 8-Stellung durch den jeweiligen Katalysator auszuschließen, ließen wir auch **8** mit der Halogenose **9** unter *Hilbert-Johnson*-Bedingungen in trockenem Acetonitril bei Raumtemperatur reagieren. Es resultierte hieraus jedoch wiederum kein neues Ergebnis, denn die Reaktionsprodukte waren erneut **13**, **19** und **25**. Diese Resultate müssen in der Weise gedeutet werden, daß das 7-Oxo-7,8-dihydrolumazin-System aus zwei mehr oder weniger isolierten sechsgliedrigen Diazinen besteht, von denen der Uracilring das 2-Oxodihydropyrazin, wie aus vielfältigen Untersuchungen bekannt ist, an nucleophiler Reaktivität beachtlich übertrifft und demzufolge leichter substituiert wird.

Die Entbenzoylierung zu den freien Lumazin-nucleosiden **14**–**16**, **20**–**22** und **26**–**28** wurde nach *Zemplén*⁹⁾ mittels Natriummethylat in Methanol bzw. methanolischem Ammoniak erreicht, wobei allerdings die Isolierung der sehr aciden Neutralmoleküle erhebliche Schwierigkeiten bereitete und lediglich die 6-Phenyl-Derivate **16** und **28** gut kristallisierten. Es überraschte auch etwas die Feststellung, daß bei der Schutzgruppenabspaltung in den Kaliumsalzen von **12** und **19** mittels methanolischem Ammoniak nach der Reaktion weiterhin die Monokaliumsalze von **15** und **22** und nicht etwa deren Ammoniumsalze anfallen.

Zur Identifizierung der Konstitutionen wurden von den freien Nucleosiden auf spektrophotometrischem Wege¹⁰⁾ zunächst die $\text{p}K_a$ -Werte bestimmt und dann die UV-Spektren der Neutralmoleküle, Mono- und Dianionen mit denen der entsprechenden *N*-Methyl-Derivate als strukturell gesicherten Bezugssubstanzen verglichen (Tab.).

Bei den $\text{p}K_a$ -Werten fällt auf, daß sowohl ein *N*-1- als auch ein *N*-3-Ribosylrest die Acidität der Amidfunktion im Pyrazinteil des Moleküls weiter verstärkt, wobei der Effekt von der *N*-1-Position vermutlich auf eine sterische Wechselwirkung und bei einer *N*-3-Substitution auf elektronische Faktoren zurückzuführen sein dürfte.

In den 1,3-Diribosiden **20**–**22** liegen die acidesten Vertreter dieser Reihe vor, da sich hier die beiden Effekte additiv auswirken.

Die Verknüpfungsstelle des Ribosylrestes zum Aglycon läßt sich bei den *N*-1- und *N*-3-Monoribosiden am besten aus den Dianion-Spektren im Vergleich zu den methylierten Vergleichssubstanzen ablesen, da sich in diesen Molekülformen sowohl Bandenlage als auch der gesamte Kurvenverlauf bei *N*-1- bzw. *N*-3-Substitution sehr charakteristisch unterscheiden. Aus den Monoanion-Spektren können keine gravierenden Unterschiede erwartet werden, da in allen Fällen die erste Deprotonierung am Säureamidteil des Pyrazinringes stattfindet und somit äquivalente Monoanion-Formen mit gleichartiger Elektronenverteilung vorliegen.

Tab.: Physikalische Daten von 7-Hydroxylumazin-Derivaten

	pK_a Wert in H_2O	λ_{max} (nm)	UV-Absorptionsspektren	lg ϵ	pH- Wert	Mole- kül- art	$^1H(1)$ $J_{1,2}$ (Hz)	NMR-Spektren 6-Substi- tuent	Lösungs- mittel
11		229 274 [281] 324 [338]	4.69 4.12 [4.08] 4.16 [3.94]		MeOH	0	7.08 bs	^{a)}	CD_2 DMSO
12		228 275 [281] 325 [338]	4.66 4.14 [4.13] 4.20 [4.05]		MeOH	0	7.05 bs	2.17	CD_2 DMSO
13		229 [276] 282 [294] 346	4.75 [4.12] 4.17 [4.09] 4.23		MeOH	0	7.10 bs	7.3 - 8.3 m	CD_2 DMSO
23		228 276 [280] 328 [341]	4.66 4.13 [4.13] 4.20 [4.09]		MeOH	0	6.72 s	^{a)}	$CDCl_3$ / CD_2 DMSO (9:1)
24		229 [276] 281 327 [340]	4.68 [4.07] 4.09 4.22 [4.10]		MeOH	0	6.70 s	2.41 s	$CDCl_3$ / CD_2 DMSO (9:1)
25		225 [284] 297 355	4.76 [4.03] 4.10 4.27		MeOH	0	6.74 s	7.1 - 8.3 m	$CDCl_3$ / CD_2 DMSO (9:1)
17		229 275 281 325 [338]	4.94 4.27 4.27 4.26 [4.12]		MeOH	0	6.65 s	^{a)}	CD_2 DMSO (9:1)
18		229 [275] 281 326 [338]	4.91 [4.20] 4.21 4.26 [4.12]		MeOH	0	7.26 s	2.37	CD_2 DMSO
							6.69 s		
							7.02 bs		
19		229 [276] 282 296 349	5.00 [4.16] 4.22 4.23 4.32		MeOH	0	6.68 s	7.3 - 8.3 m	CD_2 DMSO
a)	3.31 \pm 0.03	264 285 324	3.77 3.52 4.01		1.0	0	7.27 s		
	10.51 \pm 0.05	276 328	3.99 4.20		7.0	0			
		249 272 334	4.00 3.67 4.15		13.0	--			
14	3.13	[230] 258 317 [323]	[3.97] 3.88 4.09 [4.05]		0.0	0	6.72 d	8.32	CD_2 DMSO
	10.26	208 [240] 276 325 [337]	4.41 [3.76] 4.07 4.20 [4.08]		7.0	--	3.7		
		249 272 [300] 330 [342]	4.10 3.85 [3.75] 4.23 [4.15]		13.0	--			
b)	3.65 \pm 0.02	267 283 327	3.91 3.85 4.11		1.0	0			
	10.63 \pm 0.05	278 328	3.97 4.24		7.0	--			
		249 272 334	4.05 3.70 4.21		13.0	--			
15	3.34 \pm 0.08	260 [286] 319 [338]	3.91 [3.71] 4.09		1.0	0	6.48 d	2.25 s	CD_2 DMSO
	10.67 \pm 0.1	267 277 325 [344]	4.02 4.24 [4.10]		6.0	--	4.0		
		247 273 331 [344]	4.08 3.83 4.24 [4.12]		13.0	--			
4	3.44 \pm 0.1	203 [220] 281 345	4.55 [4.20] 4.13 4.23		1.0	0			
	10.81 \pm 0.05	217 [235] 290 347	4.50 [4.15] 4.09 4.29		7.0	--			
		[235] 257 285 355	[4.19] 4.06 3.88 4.33		13.0	--			

Tab. (Fortsetzung)

	pK_s -Wert in H_2O	λ_{max} (nm)	UV-Absorptionsspektren	$\lg \epsilon$	pH- Wert	Mole- kül- art	$^1H(1)$ $J_{1,2}$ (Hz)	NMR-Spektren 6-Substi- tuent	Lösungs- mittel
16	3.31	225	339	4.22	4.16	4.21	6.74 d	7.67 m (3)	CD_3JDMSO/D_2O
	10.49	208 [233] [237]	290 344 [258]	4.50 [4.17] [4.21]	4.12 4.29 [4.01]	3.94 4.33	3.8	8.27 m (2)	
e)	3.60 \pm 0.03	274	326	3.79	4.03	4.03			CD_3JDMSO/D_2O
	10.51 \pm 0.05	274 328	328 338	4.57 4.04	3.91 4.15	4.15			
26	3.23 \pm 0.06	225	325	[3.86]	3.86	4.09	6.34 d	7.91 s	CD_3JDMSO/D_2O
	10.24 \pm 0.06	227 263	277 328 [341] 339	4.60 3.99	3.94 4.11	4.11	3.8		
d)	4.17 \pm 0.02	276	324	3.98	4.09	4.09			CD_3JDMSO
	10.42 \pm 0.04	275	328	4.47	4.08	3.95	6.16 d	2.36 s	
27	3.71 \pm 0.03	224	324	4.46 [3.97]	3.98	4.11	3.8		CD_3JDMSO
	10.87 \pm 0.1	209 [233] 225 261	281 328 [340] 340	4.56 4.08	3.99 4.13	4.13			
e)	3.84 \pm 0.04	231	348	4.11	4.03	4.28			CD_3JDMSO/D_2O
	10.60 \pm 0.03	214 [233] 229	287 348 [275]	4.59 [4.15] [4.02]	4.07 4.29 4.04 4.29	4.29			
28	3.39	213 [233]	285 348	[4.08]	4.03	4.25	6.36 d	7.70 m (3)	CD_3JDMSO/D_2O
	10.39	213 [233] 233	293 348 [275]	4.54 [4.14] 4.63	4.07 4.26 [3.97]	4.27	3.6	8.30 m (2)	
b)	3.50 \pm 0.05	284	349	4.15	4.26	4.26			CD_3JDMSO/D_2O
		291	350	4.12	4.31	6.0			
22	3.07 \pm 0.08	217 [236]	342	4.62 [4.19]	4.11	4.20			CD_3JDMSO/D_2O
		202 230	287 352	4.59 4.08	4.07 4.29	4.29			
5	3.86 \pm 0.1	217 [240]	295 370	4.57 [4.01]	[3.78]	4.10 4.34			CD_3JDMSO/D_2O
	13.1 \pm 0.1	217 [254]	272 [295]	4.63 [4.63]	3.97 [4.08]	4.27			

[] = Schulter; *) = verdeckt; s = Singulett; sb = breites Singulett; d = Dublett; m = Multipllett; 0 = Neutramolekül; -- = Monoanion; --- = Dianion.
 a) 7-Hydroxy-1-methylumazin. — b) 7-Hydroxy-1,6-dimethylumazin. — c) 3-Methyl-7-oxo-7,8-dihydroalumazin. — d) 3,6-Dimethyl-7-oxo-7,8-dihydroalumazin. — e) 3-Methyl-7-oxo-6-phenyl-7,8-dihydroalumazin. — f) 7-Hydroxy-1,3-dimethyl-6-phenylumazin.

Die Konfiguration der glycosidischen Bindung am Anomerenzentrum läßt sich am einfachsten aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der bezoylierten Nucleoside ermitteln. Um gut aufgelöste Spektren zu erhalten, ist es notwendig, in $\text{CDCl}_3/[\text{D}_6]\text{DMSO}$ (9:1) zu messen, wobei das $1'\text{-H}$ -Signal in allen Fällen als Singulett erscheint, was nach *Lemieux*¹¹⁾ die β -Konfiguration in der D-Ribosyl-Reihe beweist. Diese Struktur muß auch aufgrund der gewählten Reaktionsbedingungen gefordert werden, da bei Verwendung von 2-O-Acylribose-Derivaten in Lewis-Säurekatalysierten Umsetzungen die „*trans*-Regel“ von *Tipson* und *Baker*^{12,13)} den Reaktionsverlauf bestimmt¹⁴⁾. Die $1'\text{-H}$ -Signale erscheinen bei den *N*-1-Ribosiden im Vergleich zu ihren *N*-3-Isomeren in Analogie zu früheren Befunden²⁾ bei einfacheren Lumazin-nucleosiden bei tieferem Feld.

Bei den entbenzoylierten, freien Nucleosiden **14** – **16** und **26** – **28** erscheint das Anomerenproton erwartungsgemäß als Dublett, mit der üblichen, nicht charakteristischen Kopplungskonstanten $J_{1',2'} = 3.5 - 4.0$ Hz. Es ist ferner interessant, daß die unterschiedliche Substitution am *N*-1 bzw. *N*-3 einen starken Einfluß auf die chemische Verschiebung des 6-H bzw. 6-Methyl-Substituenten ausübt.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für finanzielle Hilfe und Frau *M. Bischler* für die Bestimmung der physikalischen Daten.

Experimenteller Teil

UV-Absorptionsspektren: Cary-Recording-Spektrometer, Modell 118, der Fa. Applied Phys. Corp. – NMR-Spektren: Jeol JNM-MH-100. – Chromatographische Untersuchungen: Dünnschichtfolien Kieselgel F 1500 LS 254 und Cellulose F 1440 LS 254 der Fa. Schleicher & Schüll. Präparative Schichtchromatographie auf Kieselgel PF_{254} (2 mm Schichtdicke) und Säulenchromatographie auf Kieselgel (0.05 – 0.2 mm Korngröße), beide von der Fa. Merck. – Die Trocknung der Substanzen erfolgt im Trockenschrank bei 100 °C bzw. im Vakuumofen Büchi-TO 50 über P_2O_5 bei Raumtemp. – Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

7-Oxo-6-phenyl-7,8-dihydroalumazin (**3**): 1.78 g (0.01 mol) 5,6-Diaminouracil-hydrochlorid werden in 50 ml Wasser mit verd. Ammoniak auf pH 7 neutralisiert und dann mit 2.0 g (0.012 mol) Phenylglyoxylsäure-methylester versetzt. Man rührt 6 h bei Raumtemp., saugt den gelblichen Niederschlag ab (2.2 g) und fällt zur Reinigung aus verd. Natronlauge und Eintropfen in siedende 1 N HCl um. Ausb. 1.5 g (59%) schwach gelbliche Kristalle vom Schmp. > 320 °C.

$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_3$ (256.2) Ber. C 56.25 H 3.15 N 21.87 Gef. C 56.15 H 3.13 N 21.96

7-Hydroxy-1-methyl-6-phenyllumazin (**4**): 1.92 g (10 mmol) 5,6-Diamino-1-methyluracil-hydrochlorid¹⁵⁾ werden in 50 ml 50proz. wäßrigem Methanol gelöst, mit verd. Ammoniak auf pH 5 abgestumpft, mit 1.95 g (12 mmol) Phenylglyoxylsäure-methylester versetzt und bei 40 °C über Nacht gerührt. Aus der anfangs klaren Lösung scheiden sich nach kurzer Zeit gelbliche Kristalle ab. Man sammelt den Niederschlag und erhält nach mehrmaligem Umfällen aus verd. Kalilauge/1 N HCl in der Siedehitze bzw. Umkristallisieren aus DMF/Wasser 1.10 g (41%) gelbliche Kristalle vom Schmp. 335 – 340 °C (Zers.).

$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3$ (270.2) Ber. C 57.77 H 3.73 N 20.73 Gef. C 57.48 H 3.79 N 20.47

8-Ethyl-7-oxo-6-phenyl-7,8-dihydroalumazin (**5**): 1.03 g (5 mmol) 5-Amino-6-(ethylamino)-uracil-hydrochlorid¹⁶⁾ werden in 25 ml Wasser/Methanol (1:1) gelöst, mit 1.0 g (6 mmol) Phenylglyoxylsäure-methylester versetzt und bei 40 °C über Nacht gerührt. Der abgeschiedene

Niederschlag wird gesammelt und bis zur chromatographischen Reinheit zweimal aus verd. Kalilauge/1 N HCl umgefällt und anschließend aus DMF/Wasser umkristallisiert, wobei 0.17 g (11%) gelbliche Kristalle vom Schmp. > 350°C erhalten werden.

$C_{14}H_{12}N_4O_3 \cdot H_2O$ (302.3) Ber. C 55.62 H 4.67 N 18.54 Gef. C 55.59 H 4.67 N 18.50

7-Hydroxy-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)lumazin (**11**): 3.0 g (16.6 mmol) 7-Hydroxylumazin⁶ werden unter Feuchtigkeitsausschluß in 25 ml Hexamethyldisilazan (HMDS) unter Zugabe weniger Kristalle Ammoniumsulfat 20 h unter Rückfluß gekocht, wobei unter Auflösung Silylierung zum 2,4,7-Tris(trimethylsiloxy)pteridin (**6**) erfolgt. Man zieht das überschüssige HMDS ab, löst den Rückstand in 25 ml absol. Benzol, versetzt mit 2,3,5-Tri-O-benzoyl-1-bromribofuranose (**9**) (hergestellt aus 10 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoylribofuranose (**10**)¹⁷) in 75 ml absol. Benzol sowie je 5.0 g HgO und HgBr₂ und kocht anschließend 4 h unter Rückfluß. Nach Abkühlen wird die Reaktionsmischung mit 5 ml Methanol behandelt, zur Trockne eingengt und der Rückstand mit 250 ml Chloroform digeriert. Nach Filtrieren vom Ungelösten wird die Chloroform-Phase zweimal mit je 200 ml 20proz. KI-Lösung und dann noch mit Wasser ausgeschüttelt. Man engt die Chloroform-Phase nach Trocknen über Na₂SO₄ ein und erhält nach Aufschäumen i. Vak. 6.8 g Rohprodukt. Es wird dann in drei Portionen über Kieselgelsäulen (3.5 × 45 cm) im System Chloroform/Methanol (9:1) chromatographiert und die beiden blau fluoreszierenden Hauptfraktionen abgetrennt und gesammelt. Eine Trennung, die in Fraktionen von 150 ml durchgeführt wurde, erfordert 2.5 l Eluens. Das Diribosid **17** befindet sich in der Fraktion 5 + 6, während das Hauptprodukt **11** ab Fraktion 8 eluiert wird. Die Anfangs- und Zwischenfraktionen werden verworfen.

Durch Einengen der Hauptfraktion erhält man 5.1 g (46%) farblosen Feststoff vom Schmp. 156–158°C, welcher sich aufgrund der Elementaranalyse und der Rückstandsbestimmung als das Kaliumsalz von **11** erwies.

$[C_{32}H_{23}N_4O_{10}]K$ (662.7) Ber. C 57.99 H 3.52 N 8.45 Gef. C 57.38 H 3.66 N 8.42

Die Überführung des Kaliumsalzes in das freie Ribosid **11**, das aufgrund seiner großen Eigenacidität eine gewisse Instabilität besitzt, kann durch Lösen in Chloroform und Ausschütteln der organischen Phase mit 0.5 N HCl bewerkstelligt werden. Die Chloroform-Phase wird abgetrennt und ohne Trocknen – da es sonst wieder zur Salzbildung kommt – i. Vak. eingengt, wobei ein chromatographisch reiner amorpher Feststoff erhalten wird.

$C_{32}H_{24}N_4O_{10} \cdot H_2O$ (642.6) Ber. C 59.81 H 4.00 N 8.72 Gef. C 59.83 H 3.88 N 8.58

7-Hydroxy-6-methyl-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)lumazin (**12**): 2.0 g (9.4 mmol) 7-Hydroxy-6-methylumazin⁶ werden in 30 ml Hexamethyldisilazan unter Feuchtigkeitsausschluß 20 h unter Rückfluß gekocht, wobei eine klare Lösung entsteht. Das überschüssige HMDS wird abgezogen, der Rückstand in 25 ml wasserfreiem Benzol aufgenommen und mit einer Lösung von 2,3,5-Tri-O-benzoyl-1-bromribofuranose (**9**)¹⁷ in 25 ml wasserfreiem Benzol (hergestellt aus 5.0 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoylribofuranose (**10**) versetzt. Nach Zugabe von je 2.5 g HgO und HgBr₂ wird 4 h unter Rückfluß gekocht. Man engt anschließend das Reaktionsgemisch zur Trockne ein, nimmt in 50 ml Chloroform auf und schüttelt zweimal mit je 50 ml 20proz. KI-Lösung und einmal mit Wasser aus. Die organische Phase wird auf ein kleines Volumen eingengt, auf eine Kieselgelsäule (4 × 40 cm) gegeben und dann mit 3.6 l Chloroform/Methanol (9:1) chromatographiert und Fraktionen von 300 ml aufgefangen. Die ersten vier Fraktionen werden verworfen, in der fünften Fraktion befindet sich das Diribosid **18**, und das Hauptprodukt **12** wird durch Einengen der letzten fünf Fraktionen in reiner Form gewonnen. Man erhält 2.15 g (34%) Monokaliumsalz in Form eines farblosen Kristallpulvers vom Schmp. 161–163°C.

$[C_{33}H_{25}N_4O_{10}]K$ (676.7) Ber. C 58.57 H 3.73 N 8.28 Gef. C 58.42 H 4.11 N 7.76

Das freie Ribosid **12** kann aus dem Kaliumsalz durch Behandlung mit etherischer HCl, Abfiltrieren des abgeschiedenen KCl und anschließendes Einrotieren der organischen Phase i. Vak. als farbloser amorpher Feststoff gewonnen werden.

$C_{33}H_{26}N_4O_{10}$ (638.6) Ber. C 62.06 H 4.10 N 8.76 Gef. C 61.53 H 4.13 N 8.36

7-Hydroxy-6-phenyl-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)lumazin (13): 3.0 g (1.2 mmol) **3** werden in 20 ml Hexamethyldisilazan durch 5 h Kochen unter Rückfluß zu **8** silyliert. Man zieht das überschüssige HMDS ab, löst den Rückstand in 25 ml wasserfreiem Benzol und versetzt mit einer Lösung von 6.0 g 2,3,5-Tri-O-benzoyl-1-bromribofuranose (**9**)¹⁷⁾ in 25 ml Benzol. Nach Zugabe von je 3.0 g HgO und HgBr₂ wird unter Feuchtigkeitsausschluß 4 h unter Rückfluß gekocht. Die Reaktionsmischung wird nach Abkühlen mit 5 ml Methanol versetzt, zur Trockne einrotiert und der Rückstand in 150 ml Chloroform aufgenommen. Nach Filtrieren vom Ungelösten wird zweimal mit je 100 ml 20proz. KI-Lösung ausgeschüttelt, dann einmal mit Wasser gewaschen und anschließend die Chloroform-Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Man engt auf ein kleines Volumen ein, gibt auf eine Kieselsäuresäule (3.5 × 40 cm) und entwickelt zunächst mit 1 l Chloroform, wobei noch kein fluoreszierendes Material von der Säule eluiert wird. Es wird dann mit Chloroform/Methanol (20:1) weiter chromatographiert und Fraktionen von 120 ml aufgefangen. Das Diribosid **19** befindet sich in Fraktion 4 + 5, und das gesuchte Reaktionsprodukt **13** wird ab Fraktion 9 zuletzt eluiert. Man schüttelt mit 0.1 N HCl und dann mit Wasser aus, engt i. Vak. ein und erhält 1.2 g (18%) farbloses Kristallpulver vom Schmp. 150–152°C.

$C_{38}H_{28}N_4O_{10} \cdot H_2O$ (718.6) Ber. C 63.51 H 4.20 N 7.80 Gef. C 63.46 H 4.22 N 7.92

7-Hydroxy-1-β-D-ribofuranosyllumazin (14): a) 0.5 g (0.75 mmol) **11**-Kaliumsalz werden in 50 ml gesättigter methanolischer Ammoniak-Lösung gelöst und 2 d bei Raumtemp. gerührt. Die trübe Lösung wird filtriert, das Filtrat zur Trockne einrotiert und der Rückstand mit Ether digeriert, wobei ein kristalliner Niederschlag anfällt. Nach Trocknen werden 0.165 g (63%) Kaliumsalz von **14** in Form eines farblosen Kristallpulvers erhalten.

b) 0.66 g (1 mmol) **11**-Kaliumsalz werden in 30 ml wasserfreiem Methanol, dem 70 mg Natriummethylat zugesetzt sind, suspendiert und 20 h bei Raumtemp. unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Man verdünnt anschließend mit 10 ml Wasser und gibt zur klaren Lösung so lange Dowex-50 (H⁺-Form) zu, bis der pH 1 beträgt. Es wird filtriert, das Filtrat vorsichtig i. Vak. zur Trockne eingengt und der Rückstand in wenig Ethanol aufgenommen. Nach Stehenlassen kristallisieren 50 mg (16%) farblose Kristalle aus, die sich ab 180°C ohne zu schmelzen braun färben.

$C_{11}H_{12}N_4O_7$ (312.2) Ber. C 42.31 H 3.87 N 17.95 Gef. C 42.18 H 4.00 N 17.77

7-Hydroxy-6-methyl-1-β-D-ribofuranosyllumazin (15): 0.5 g (0.8 mmol) **12**-Kaliumsalz werden in 50 ml gesättigter methanolischer Ammoniak-Lösung 2 d bei Raumtemp. gerührt. Man filtriert die entstandene Trübung ab, engt das Filtrat zur Trockne ein und behandelt den Rückstand mit 50 ml Ether, wobei ein mikrokristallines Kristallpulver anfällt. Durch Umkristallisation aus 6 ml Wasser/Ethanol (1:1) werden 0.2 g (69%) farbloses Kristallpulver erhalten, das sich ab 150°C allmählich verfärbt ohne zu schmelzen.

$[C_{12}H_{13}N_4O_7]K$ (364.4) Ber. C 39.55 H 3.60 N 15.38 Gef. C 39.38 H 4.17 N 15.26

7-Hydroxy-6-phenyl-1-β-D-ribofuranosyllumazin (16): 0.5 g (0.7 mmol) **13** werden in 25 ml wasserfreiem Methanol suspendiert, 60 mg Natriummethylat zugegeben und dann unter Feuchtigkeitsausschluß 20 h bei Raumtemp. gerührt. Man verdünnt mit 25 ml Wasser, säuert mit Salzsäure auf pH 1 an und sammelt nach mehrstündigem Stehenlassen den abgeschiedenen Niederschlag. Nach Waschen mit Wasser und Trocknen über P₂O₅ i. Vak. erhält man 0.19 g (62%) schwachgelbliche Kristalle vom Schmp. ab 180°C (langsame Dunkelfärbung).

$C_{17}H_{16}N_4O_7 \cdot H_2O$ (406.4) Ber. C 50.24 H 4.47 N 13.79 Gef. C 50.17 H 4.47 N 13.64

7-Hydroxy-1,3-bis(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)lumazin (17): Die Fraktionen 5 und 6 der bei **11** beschriebenen Säulentrennung werden gemeinsam eingeengt, und man erhält 0.14 g (3%) farbloses Kristallpulver vom Schmp. 137 – 139 °C.

[C₅₈H₄₃N₄O₁₇]K (1109.1) Ber. C 62.81 H 3.90 N 5.05 Gef. C 63.20 H 4.03 N 5.24

Aus dem Kaliumsalz kann das freie Diribosid dadurch erhalten werden, daß man in Chloroform löst, dann mit 0.5 N HCl und anschließend mit Wasser ausschüttelt und die organische Phase i. Vak. zur Trockne einengt. Aufgrund der großen Eigenacidität des Moleküls ist es ratsam, eine Salzform aufzubewahren.

C₅₈H₄₄N₄O₁₇ · H₂O (1089.1) Ber. C 64.00 H 4.22 N 5.15 Gef. C 64.28 H 4.18 N 5.38

7-Hydroxy-6-methyl-1,3-bis(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)lumazin (18): Die 5. Fraktion der bei **12** beschriebenen säulenchromatographischen Trennung wird zur Trockne eingeengt und ergibt 1.1 g (10%) farbloses Kristallpulver vom Schmp. 143 – 145 °C. Aufgrund der Elementaranalyse und Rückstandsbestimmung handelt es sich um das Kaliumsalz von **18**.

[C₅₉H₄₅N₄O₁₇]K (1121.2) Ber. C 63.20 H 4.10 N 5.00 Gef. C 63.43 H 4.24 N 5.43

Die Neutralform des Diribosids **18** kann durch Lösen des Kaliumsalzes in Chloroform, Ausschütteln mit 0.5 N HCl und Waschen mit Wasser sowie anschließendes Einengen der organischen Phase und Trocknen i. Vak. erhalten werden. Es hinterbleibt bei diesem Prozeß ein farbloser Feststoff.

C₅₉H₄₆N₄O₁₇ · 2 H₂O (1119.1) Ber. C 63.32 H 4.50 N 5.00 Gef. C 63.60 H 4.61 N 4.57

7-Hydroxy-6-phenyl-1,3-bis(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)lumazin (19): Die Fraktionen 4 und 5 der bei **13** beschriebenen säulenchromatographischen Trennung werden zur Trockne eingeengt und ergeben 3.05 g (28%) schwach gelbliches Kristallpulver vom Schmp. 143 – 144 °C.

[C₆₄H₄₇N₄O₁₇]Na (1167.1) Ber. C 65.86 H 4.06 N 4.80 Gef. C 66.38 H 4.34 N 5.09

7-Hydroxy-6-phenyl-1,3-bis(β-D-ribofuranosyl)lumazin (22): 1.75 g (1.5 mmol) **19** werden in 100 ml gesättigter methanolischer Ammoniak-Lösung gelöst und 3 d bei Raumtemp. gerührt. Man engt dann zur Trockne ein, behandelt den Rückstand mit 50 ml Ether und erhält nach erneutem Absaugen und Trocknen 0.815 g (97%) gelblichen Feststoff vom Schmp. ab 196 °C Sintern und bei 205 °C Zers. Für die Analyse werden 50 mg aus 10 ml Ethanol umkristallisiert.

[C₂₂H₂₃N₄O₁₁]Na · H₂O (560.5) Ber. C 47.14 H 4.45 N 9.99 Gef. C 47.14 H 4.36 N 9.90

7-Oxo-3-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydrolumazin (23): 3.6 g (20 mmol) 7-Hydroxylumazin⁶⁾ werden in 25 ml Hexamethyldisilazan unter Zugabe einiger Kristalle Ammoniumsulfat 20 h unter Rückfluß gekocht. Anschließend wird das überschüssige HMDS abdestilliert und die verbleibende Kristallmasse i. Hochvak. destilliert, Sdp. 105 – 110 °C/0.005 Torr, wobei 7.32 g (93%) 2,4,7-Tris(trimethylsilyloxy)pteridin (**6**) erhalten werden.

Man löst die Silyl-Verbindung in 50 ml wasserfreiem Benzol, gibt 2 ml Zinntetrachlorid zu und tropft bei Raumtemp. unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß eine Lösung von 10.0 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoylribofuranose (**10**) in 40 ml wasserfreiem Benzol innerhalb von 4 h langsam zu. Anschließend wird über Nacht weiter gerührt und dann die Reaktionslösung in 120 ml gesättigte NaHCO₃-Lösung eingerührt, bis die Gasentwicklung aufhört. Die entstehende Suspension wird durch Kieselgur gesaugt, mit Chloroform nachgewaschen, die organische Phase abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Einengen erhält man 7.5 g farblosen Schaum, welcher, in wenig Chloroform gelöst, auf eine Kieselgelsäule aufgegeben und mit Chloroform/Methanol (3:1) chromatographiert wird. Die langsam laufende, blau fluoreszierende Hauptzone wird aufgefangen, zur Trockne eingeengt, der verbleibende farblose Schaum erneut in wenig Chloroform

gelöst und durch Zugabe von viel Ethanol **23** in Form des amorphen Natriumsalzes abgeschieden. Man erhält 2.56 g (19%) farblosen Feststoff vom Schmp. ab 225 °C (Sintern und Zers.).

[C₃₂H₂₃N₄O₁₀]Na · H₂O (664.5) Ber. C 57.83 H 3.79 N 8.43 Gef. C 57.84 H 3.78 N 8.34

6-Methyl-7-oxo-3-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydrolumazin (24): 4.24 g (22 mmol) 7-Hydroxy-6-methylumazin⁶⁾ werden analog vorstehend in 20 ml HMDS zu 7 silyliert. Das überschüssige HMDS wird abdestilliert, der Rückstand in 50 ml Dichlorethan gelöst, 2 ml Zinntetrachlorid zugesetzt und dann bei Raumtemp. unter Feuchtigkeitsausschluß im Laufe von 4 h 10.0 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose (**10**) in 40 ml Dichlorethan zuge- tropft. Nach weiteren 5 h Reaktionszeit wird in 70 ml gesättigte NaHCO₃-Lösung eingerührt und nach Aufhören der Gasentwicklung durch Kieselgur filtriert. Man wäscht mit Chloroform nach, trennt die organische Phase ab und engt nach Trocknen über Na₂SO₄ ein, wobei 10.5 g farbloser Schaum erhalten wird. Es wird dann in wenig Chloroform gelöst, auf eine Kieselgelsäule aufgegeben und im System Chloroform/Methanol (3 : 1) chromatographiert. Die langsam laufende, blau fluoreszierende Hauptzone wird aufgefangen und liefert nach Einengen 3.5 g (23%) **24** in Form des Natriumsalzes, amorpher farbloser Feststoff mit dem Schmp. ab 200 °C (Sintern und beginnende Zers.).

[C₃₃H₂₅N₄O₁₀]Na · H₂O (678.5) Ber. C 58.41 H 4.01 N 8.25 Gef. C 58.43 H 4.01 N 8.19

7-Oxo-6-phenyl-3-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-7,8-dihydrolumazin (25): 2.57 g (10 mmol) **3** werden analog vorstehend in 15 ml Hexamethyldisilazan durch 15 h Kochen unter Rückfluß zu **8** silyliert. Man zieht i. Vak. das überschüssige HMDS ab, löst den Rückstand in 75 ml wasserfreiem Benzol, gibt 5.0 g 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose (**10**) sowie 1 ml Zinntetrachlorid zu und rührt anschließend noch 4 h bei Raumtemp. Anschließend wird durch Zugabe von 6 ml Methanol hydrolysiert und nach Stehenlassen über Nacht die Suspension über Kieselgur filtriert. Man trocknet über Na₂SO₄, engt ein und gibt den verbleibenden gelblichen Schaum nach Lösen in wenig Chloroform auf eine präparative Kieselgelsäule. Es wird mit Chloroform/Methanol (9 : 1) entwickelt und die langsam laufende, blau fluoreszierende Hauptzone aufgefangen, wobei nach Einengen 3.87 g (52%) **25** in Form des Natriumsalzes anfallen, gelblicher Feststoff vom Schmp. ab 200 °C (Sintern).

[C₃₈H₂₇N₄O₁₀]Na · H₂O (740.6) Ber. C 61.62 H 3.95 N 7.57 Gef. C 62.15 H 4.09 N 7.49

7-Oxo-3-β-D-ribofuranosyl-7,8-dihydrolumazin (26): 0.66 g (1 mmol) **23** werden zu einer Lösung von 70 mg Natriummethylat in 30 ml wasserfreiem Methanol gegeben und 20 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird mit 20 ml Wasser verdünnt, mit 1 N HCl auf pH 2 angesäuert und dann i. Vak. zur Trockne eingengt. Der verbleibende Feststoff wird aus Isopropylalkohol umkristallisiert, wobei vom Ungelösten abfiltriert wird. Nach Stehenlassen im Eisschrank erhält man 0.25 g (71%) Mononatriumsalz in Form eines farblosen Kristallpulvers vom Schmp. > 330 °C.

[C₁₁H₁₁N₄O₇]Na · H₂O (352.2) Ber. C 37.50 H 3.72 N 15.91 Gef. C 37.64 H 4.09 N 15.56

6-Methyl-7-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-7,8-dihydrolumazin (27): 0.68 g (1 mmol) **27** werden in einer Lösung von 70 mg Natriummethylat in 30 ml wasserfreiem Methanol 1 d bei Raumtemp. gerührt. Man versetzt mit 20 ml Wasser, behandelt mit Ionen-Austauscher Dowex-50 (H⁺-Form) bis pH 2, filtriert vom Austauscherharz ab und rotiert zur Trockne ein. Es wird noch zweimal mit je 10 ml Wasser abrotiert und dann der Rückstand aus 15 ml n-Propanol in der Weise umkristallisiert, daß das Lösungsmittel langsam im Exsiccator verdunstet wird. Es scheiden sich 0.14 g (41%) farblose Kristalle vom Schmp. ab 200 °C (allmähliche Zers.) ab.

C₁₂H₁₄N₄O₇ · H₂O (344.3) Ber. C 41.86 H 4.68 N 16.28 Gef. C 42.49 H 4.60 N 15.87

7-Oxo-6-phenyl-3-β-D-ribofuranosyl-7,8-dihydrolumazin (28): 1.48 g (2 mmol) **25** werden in einer Lösung aus 0.2 g Natriummethylat in 50 ml wasserfreiem Methanol 20 h bei Raumtemp. und

Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Anschließend wird mit 20 ml Wasser verdünnt, mit 1 N HCl auf pH 1 angesäuert und dann vorsichtig bis zur beginnenden Kristallisation eingeengt. Der Niederschlag wird gesammelt und zur Reinigung aus verd. Natronlauge mit 1 N HCl umgefällt, wobei sich 0.35 g (42%) gelbliche Kristalle vom Schmp. ab 180 °C (allmähliche Braunfärbung) abscheiden.

$C_{17}H_{16}N_4O_7 \cdot H_2O$ (406.4) Ber. C 50.24 H 4.47 N 13.79 Gef. C 50.11 H 4.40 N 13.63

Literatur

- 1) XXXI. Mittel.: K. Ienaga und W. Pfeleiderer, Liebigs Ann. Chem. **1979**, 1872.
- 2) G. Ritzmann und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **106**, 1401 (1973).
- 3) W. Pfeleiderer, G. Ritzmann, K. Harzer und J. C. Jochims, Chem. Ber. **106**, 2982 (1973).
- 4) W. Hutzenlaub, K. Kobayashi und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **109**, 3217 (1976).
- 5) G. Ritzmann, K. Ienaga und W. Pfeleiderer, Liebigs Ann. Chem. **1977**, 1217.
- 6) W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **90**, 2588 (1957).
- 7) E. Wittenburg, Chem. Ber. **101**, 1095; 1614 (1968).
- 8) U. Niedballa und H. Vorbrüggen, J. Org. Chem. **39**, 3654, 3660, 3664, 3668, 3672 (1974).
- 9) G. Zemplén, A. Geres und J. Hadacsy, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **69**, 1827 (1936).
- 10) A. Albert und E. P. Serjeant, The Determination of Ionization Constants, S. 44, Chapman and Hall Ltd., London 1971.
- 11) R. U. Lemieux und J. W. Lown, Can. J. Chem. **41**, 889 (1963).
- 12) R. S. Tipson, J. Biol. Chem. **130**, 55 (1939).
- 13) B. R. Baker, Ciba Foundation Symposium, Chemistry and Biology of Purines, S. 120, J. and A. Churchill Ltd., London 1957.
- 14) K. A. Watanabe, D. H. Hollenberg und J. J. Fox, J. Carbohydr. Nucleosides, Nucleotides **1**, 1 (1974).
- 15) W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **90**, 2272 (1957).
- 16) G. Nübel und W. Pfeleiderer, Liebigs Ann. Chem. **631**, 168 (1960).
- 17) W. Pfeleiderer, D. Autenrieth und M. Schranner, Chem. Ber. **106**, 328 (1973).