

Synthese von 7-Desazainosin durch Phasentransferglycosidierung

Frank Seela* und Doris Hasselmann

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

Eingegangen am 2. April 1980

Synthesis of 7-Deazainosine by Phase Transfer Glycosidation

Phase transfer glycosidation of 4-methoxy-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine (**2**) with 2,3,5-tri-*O*-benzyl-1-bromo-*D*-ribose (**3**) leads to selective *N*-7 ribosidation giving a mixture of the anomers **4/5**. They are separated chromatographically and the anomeric configuration is assigned by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. The protecting groups of **5** were removed by hydrolysis (methyl ether), desulfurisation (methylthio residue) and catalytic hydrogenation (benzyl ether) yielding 7-(β-*D*-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine-4(3*H*)-one (**1**), the 7-deaza derivative of inosine.

7-Desazainosin, 7-(β-*D*-Ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-on (**1**), hat sich als Monomer-Baustein in Polynucleotiden wie Poly(7-Desazainosinsäure) als potenter Interferon-Induktor bewährt¹). Zur präparativen Synthese des Polynucleotides, das über sein 5'-Pyrophosphat mittels Polynucleotidphosphorylase gewonnen werden kann¹), ist der totalsynthetische Zugang zum Nucleosid **1** wichtig.

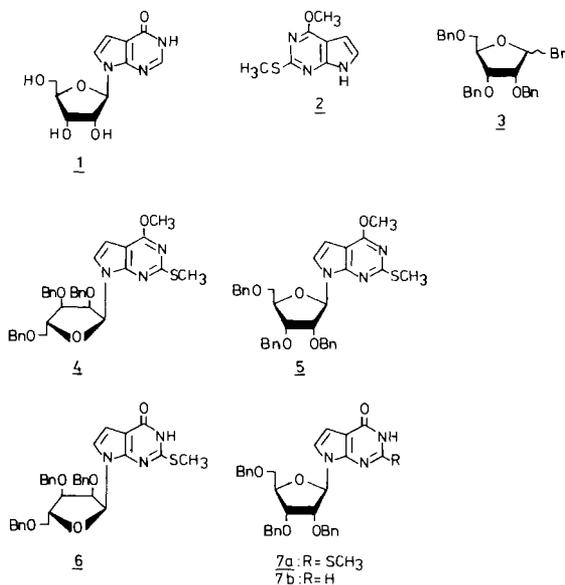
Im Gegensatz zu Tubercidin (7-Desazaadenosin), das aus den Kulturfiltraten von Streptomycesen gewonnen werden kann, ist die fermentative Darstellung von 7-Desazainosin bisher nicht möglich. Dies mag damit zusammenhängen, daß in der Bakterienzelle kein Enzym für die Desaminierung von Tubercidin zur Verfügung steht; denn für Adenosin-Desaminase, die Adenosin zu Inosin umwandelt, ist Tubercidin weder Substrat noch Inhibitor²).

Die Darstellung von 7-Desazainosin (**1**) durch Kondensation von 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-5-*O*-trityl-*D*-ribose mit 4-Amino-5-(2,2-diethoxyethyl)-6(1*H*)-pyrimidinon³) verläuft ungünstig und erfordert eine Vielzahl aufwendiger Trennoperationen. Der semisynthetische Zugang der Verbindung durch Desaminierung von Tubercidin mit Bariumnitrit³) ist zwar bedeutend einfacher, setzt jedoch Tubercidin voraus, das fermentativ gewonnen wird.

Das von uns entwickelte Verfahren der Phasentransferglycosidierung gestattet es nun, Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine in hoher Ausbeute mit glyconischen Resten zu verknüpfen⁴). Wir haben dieses Verfahren bisher nur zur Darstellung von *D*-Arabinonucleosiden benutzt⁵) und wenden diese Methode nun zur Darstellung eines Ribonucleosids an.

Als glyconischer Rest wird 2,3,5-Tri-*O*-benzyl-1-brom-*D*-ribofuranose (**3**) aus 2,3,5-Tri-*O*-benzyl-1-*O*-(4-nitrobenzoyl)-*D*-ribofuranose und Bromwasserstoff dargestellt⁶). Als Aglyconvorstufe dient 2⁷, ⁸), dessen sperriger 2-Methylthioest die *N*-Glycosidierung am Pyrimidinring unterdrückt und das als *O*-Methylether in der Lactimform vorliegt.

Die Phasentransferglycosidierung erfolgt in Dichlormethan/50proz. Natronlauge mit Tetra-butylammonium-hydrogensulfat als Katalysator. Die organische Phase, in der sich das Aglycon befindet, wird mit der Halogenose **3** und dem Katalysator versetzt und mit dem Vibromischer 15 min lang mit der Natronlauge intensiv vermischt. Die Umsetzung ist nach dieser Zeit praktisch



vollständig. Eine Kondensation mittels Natriumhydrid in Dimethoxyethan nach Goto⁹⁾ führt hier in nur geringen Ausbeuten zu unreinen Produkten¹⁰⁾. Nach Abtrennen der organischen Phase und Einengen erhält man einen sirupösen Rückstand, der sich an Kieselgel in zwei Hauptzonen auftrennt. Der Inhaltsstoff der schneller wandernden Zone (49%) bleibt nach dem Abdampfen viskos zurück, der der langsamer wandernden Zone (20%) kristallisiert bei längerem Stehenlassen durch. Aufgrund der weitgehend übereinstimmenden UV-Spektren handelt es sich bei den Glycosidierungsprodukten um Anomere. Ihre Zuordnung erfolgt mittels ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie.

Während das 1'-H-Signal (in CDCl₃) des Hauptproduktes bei 6.77 ppm erscheint, wird das entsprechende Signal des in geringerer Menge entstehenden Anomeren bei 6.45 ppm gefunden. Damit liegen die Signale der D-Ribofuranosylderivate bei ähnlichen chemischen Verschiebungen wie die von D-Arabinoverbindungen. Bei letzteren wurde das Signal mit der stärkeren Verschiebung dem β-Anomeren, das mit der geringeren dem α-Anomeren zugeordnet⁵⁾. Da für die Lage der 1'-H-Signale die relative Stellung der O^{2'}-Benzylreste entscheidend ist, diese jedoch bei den Ribosederivaten gegenüber den Arabinoseren eine umgekehrte Konfiguration besitzen, muß hier das Signal bei 6.77 ppm dem α-Anomeren und das bei 6.45 dem β-Anomeren zugeordnet werden. Mit dieser Zuordnung stimmen auch die ¹³C-NMR-Verschiebungen von C-1' des α-Anomeren (82.2 ppm) und β-Anomeren (85.9 ppm) mit denen der entsprechenden 5-Methylverbindungen überein¹¹⁾. Damit besitzt der Inhaltsstoff der schneller wandernden Zone die Konstitution 4, der der langsamer wandernden die Konstitution 5.

Die Spaltung des O-Methylethers im β-Anomeren 5 gelingt in Dioxan/Salzsäure in Gegenwart eines Radikalinhibitors, das Reaktionsprodukt 7a wird in feinen farblosen Nadeln analysenrein erhalten.

Der Methylthioest in 7a wird mit Hilfe von Raney-Nickel abgespalten und die Benzylschutzgruppen in 7b werden in Gegenwart von Palladium/Aktivkohle abhydriert.

Zum Entfernen von Ni bzw. Pd müssen die Verbindungen 1 an Dowex 1X2-Anionenaustauscher wie auch 7b an Kieselgel chromatographiert werden, da sie hartnäckig diese Metalle festhalten. Diese Metallkomplexierung der 7-Desazanucleoside wird auch im ¹H-NMR-Spektrum der

Rohprodukte sichtbar; hier erleidet speziell das 2-H-Signal eine starke Linienverbreiterung, was nahelegt, daß das Metall an N-1 oder N-3 gebunden ist. **1** kristallisiert aus wäßriger Lösung in farblosen Nadeln und stimmt sowohl chromatographisch als auch im UV- und ¹H-NMR-Spektrum mit dem aus Tubercidin gewonnenem **1**³⁾ überein.

Herrn *B. Seeger*, Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Chemie, Göttingen, danken wir für die Aufnahme der ¹³C-NMR-Spektren, Herrn Dipl.-Chem. *W. Bußmann* für die ¹H-NMR-Spektren. Die Arbeit wurde durch Mittel der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und des *Fonds der Chemischen Industrie* gefördert.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Berl-Block (Wagner & Munz, München), nicht korrigiert; Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Beller, Göttingen. ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren: Bruker HX-60- und Varian EM-390-Spektrometer (Tetramethylsilan als innerer Standard). UV-Spektren: Zeiss PMQ 3-, Shimadzu UV-200- und Varian SuperScan 3-Spektrometer. – Zur Dünnschichtchromatographie (DC) wurden Kieselgel F 254-Platten (Woelm, Eschwege) und zur Säulenchromatographie Kieselgel 60 (230 – 400 mesh ASTM, Merck, Darmstadt), Ionenaustauscher Dowex 1 X 2, OH⁻-Form (Serva, Heidelberg) benutzt. – Bei präparativer Chromatographie waren die Säulen mit einem Uvicord S und einem UltraRac Fraktionen-Sammler (LKB-Instruments, Bromma, Schweden) verbunden. – Laufmittel für die DC bzw. DE: A (Methylenchlorid), B (Chloroform/Methanol, 1000:5), C (Chloroform/Methanol, 95:5), D (Chloroform/Methanol, 9:1), E (0.25 M LiCl).

Phasentransferglycosidierung von 4-Methoxy-2-methylthio-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (2)^{7,8)} mit *2,3,5-Tri-O-benzyl-D-ribofuranosylbromid (3)*: In die Lösung von 2.0 g (3.5 mmol) **2**, *3,5-Tri-O-benzyl-1-O-(4-nitrobenzoyl)-D-ribofuranose*⁶⁾ in 10 ml Dichlormethan wird solange trockener Bromwasserstoff eingeleitet, bis keine *p*-Nitrobenzoesäure mehr ausfällt. Man saugt ab und wäscht mit wenig kaltem Dichlormethan. Beim Eindampfen der vereinigten Filtrate bleibt gelblich viskoses **3** zurück.

575 mg (2.9 mmol) **2** werden in 20 ml Dichlormethan/3 ml Dimethoxyethan gelöst und mit 240 mg (0.7 mmol) Tetrabutylammonium-hydrogensulfat versetzt. Man gibt 20 ml 50proz. Natronlauge zu und durchmischt mit dem Vibromischer. Der Halogenzucker **3** wird in wenig Dichlormethan aufgenommen, langsam unter kräftigem Vibromischen zu obiger Lösung getropft, und das Durchmischen der Phasen 15 min fortgesetzt. Man trennt die organische Phase ab, wäscht mit Wasser, trocknet über Natriumsulfat und engt ein. Der ölige Rückstand wird an einer 40 × 4 cm-Kieselgelsäule (A) chromatographiert.

4-Methoxy-2-methylthio-7-(2,3,5-tri-O-benzyl-α-D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (4): Aus der schneller wandernden Zone der o. g. Chromatographie werden 850 mg (49.1 %) farbloses viskoses **4** gewonnen. DC (Kieselgel, A): *R_F* = 0.4. – UV (Methanol): λ_{max} = 238, 282 nm (ε = 15900, 13800). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.56 (SCH₃), 3.56 (5'-H), 4.06 (OCH₃), 4.2–4.7 (2',3',4'-H, 3 Benzyl-CH₂), 6.43 (d, 5-H, *J* = 4 Hz), 6.77 (d, 1'-H, *J* = 5 Hz), 7.0–7.4 (m, 15 arom. H), 7.56 (d, 6-H, *J* = 4 Hz). – ¹³C-NMR ([D₆]DMSO): δ = 13.7 (SCH₃), 53.5 (OCH₃), 70.2 (C-5'), 72.0, 72.2, 72.5 (3 CH₂), 77.1 (C-2' u. C-3'), 81.3 (C-4'), 82.2 (C-1'), 98.1 (C-5), 101.4 (C-4a), 122.9 (C-6), 125.6–128.4 (15 arom. C). 137.6, 138.1, 138.2 (3 arom. C), 152.9 (C-7a), 161.8 (C-2), 162.6 (C-4).

4-Methoxy-2-methylthio-7-(2,3,5-tri-O-benzyl-β-D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (5):

Die langsam wandernde Zone enthält 345 mg (20%) farbloses viskoses **5**, das beim Stehenlassen durchkristallisiert. DC (Kieselgel, A): $R_F = 0.30$. – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 238, 282$ nm ($\epsilon = 16.000, 14.100$). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 2.55$ (SCH₃), 3.70 (5'-H), 4.06 (OCH₃), 4.2–4.7 (2',3',4'-H, 3 Benzyl-CH₂), 6.33 (d, 5-H, $J = 4$ Hz), 6.45 (d, 1'-H, $J = 5$ Hz), 7.15 (d, 6-H, $J = 4$ Hz), 7.2–7.4 (m, 15 arom. H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 13.6$ (SCH₃), 53.6 (OCH₃), 69.6 (C-5'), 71.2, 72.5 (3 CH₂), 76.2 (C-4'), 79.5 (C-3'), 81.0 (C-2'), 85.9 (C-1'), 99.1 (C-5), 102.0 (C-4a), 122.9 (C-6), 125.5, 127.8, 128.2 (15 arom. C), 137.6, 138.0 (3 arom. C), 152.4 (C-7a), 161.8 (C-2), 163.1 (C-4).

$\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (597.7) Ber. C 68.32 H 5.90 N 7.03 S 5.36

4: Gef. C 68.48 H 6.19 N 6.63 S 5.51

5: Gef. C 68.50 H 6.02 N 6.94 S 5.40

2-Methylthio-7-(2,3,5-tri-O-benzyl-α-D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (6):

300 mg (0.5 mmol) **4** werden in 9 ml Dioxan suspendiert, mit 5 ml 0.5 N HCl und 5.6 mg 4,4'-Thiobis(2-*tert*-butyl-5-methylphenol) versetzt und 20 h unter Rückfluß gekocht. Man engt ein und chromatographiert an einer Lobar-Fertigsäule (Merck, Typ C/B). Aus der Hauptzone gewinnt man 200 mg (68.3%) farbloses viskoses **6**; unter N₂ 94%¹⁰. DC (Kieselgel, C): $R_F = 0.5$. – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 269, 286$ nm ($\epsilon = 11.500, 11.000$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 2.55$ (SCH₃), 3.56 (m, 5'-H), 4.2–4.7 (2',3',4'-H, 3 Benzyl-CH₂), 6.41 (d, 5-H, $J = 4$ Hz), 6.60 (d, 1'-H, $J = 5$ Hz), 7.0–7.5 (m, 6-H, 15 arom. H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 12.8$ (SCH₃), 70.1 (C-5'), 71.8, 72.1, 72.4 (3 CH₂), 76.9 (C-3'), 77.4 (C-2'), 81.2 (C-4'), 82.4 (C-1'), 101.4 (C-5), 104.1 (C-4a), 122.4 (C-6), 127.4, 127.6, 128.1 (15 arom. C), 137.6, 138.0, 138.1 (3 arom. C), 147.7 (C-7a), 154.8 (C-2), 158.6 (C-4).

2-Methylthio-7-(2,3,5-tri-O-benzyl-β-D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (7a):

300 mg (0.5 mmol) **5** werden wie bei **6** hydrolysiert. Man dampft das Reaktionsprodukt mit Methanol nach. Nach Zusatz von Chloroform kristallisiert **7a** aus, das aus 2-Propanol umkristallisiert wird. 282 mg (96.3%) farblose Nadeln vom Schmp. 128 °C. DC (Kieselgel, C): $R_F = 0.4$. – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 268, 288$ nm ($\epsilon = 12800, 12000$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 2.48$ (SCH₃), 3.65 (m, 5'-H), 4.26, 4.4–4.7 (m, 2',3',4'-H, 3 Benzyl-CH₂), 6.30 (d, 1'-H, $J = 5$ Hz), 6.42 (d, 5-H, $J = 4$ Hz), 7.16 (d, 6-H, $J = 4$ Hz), 7.20–7.50 (15 arom. H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 12.8$ (SCH₃), 69.6 (C-5'), 71.2, 72.5 (3 CH₂), 76.1 (C-4'), 79.9 (C-3'), 81.0 (C-2'), 86.1 (C-1'), 102.5 (C-5), 105.0 (C-4a), 119.7 (C-6), 127.5, 127.8, 128.2 (15 arom. C), 137.7, 138.1 (3 arom. C), 147.6 (C-7a), 155.5 (C-2), 158.5 (C-4).

$\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (583.7) Ber. C 67.90 H 5.70 N 7.20 S 5.49

6: Gef. C 68.10 H 5.58 N 7.18 S 5.51

7a: Gef. C 67.89 H 5.70 N 7.16 S 5.58

7-(2,3,5-Tri-O-benzyl-β-D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (7b):

150 mg (0.26 mmol) **7a** in 10 ml Ethanol/Benzol (7:3) werden mit 1.0 g Raney-Nickel versetzt und 4 h unter Rückfluß gekocht. Das präzipitierte Reaktionsprodukt wird mit Ethanol in Lösung gebracht, der Katalysator abfiltriert und das Filtrat abgedampft. Anschließend wird an einer 30 × 3 cm-Kieselgelsäule (C) chromatographiert. Aus dem Eluat der Hauptzone erhält man 93 mg (67.4%) farbloses viskoses **7b**. DC (Kieselgel, D): $R_F = 0.7$. – UV (Methanol): $\lambda_{\max} = 259$ nm ($\epsilon = 10000$). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 3.70$ (m, 5'-H), 4.1–4.4 (m, 2',3',4'-H), 4.4–4.7 (m, 3 CH₂), 6.50 (d, 1'-H, $J = 4$ Hz), 6.63 (d, 5-H, $J = 3$ Hz), 7.1–7.4 (m, 6-H und 15 arom. H), 7.96 (s, 2-H).

$\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$ (537.6) Ber. C 71.49 H 5.81 N 7.82 Gef. C 71.69 H 5.90 N 7.87

7-(β-D-Ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on (1): 185 mg (0.35 mmol) **7b** in 50 ml Methanol werden in Gegenwart von Pd/Aktivkohle 24 h unter Normaldruck hydriert. Der Kata-

lysator wird abfiltriert und das Filtrat abgedampft. Der Rückstand wird in 50 ml Wasser aufgenommen und an einer 30 × 2 cm-Ionenaustauschersäule (Dowex, 1 X 2, OH⁻-Form) adsorbiert. Nach Waschen mit Wasser und Wasser/Methanol (3 : 2) wird **1** mit 0.1 M NH₄HCO₃ eluiert. Der Rückstand, 77 mg (84 %), kristallisiert aus Wasser in farblosen Nadeln vom Schmp. 241 – 244 °C (Lit.³) 242 – 243 °C). DC (Kieselgel, D; E): R_F = 0.1; 0.9. – UV (Methanol): λ_{max} = 259 nm (ε = 9700). – MS (70 eV): *m/e* 267 (M⁺), 237, 190, 178, 164, 148, 135 (Aglycon). – ¹H-NMR (D₂O): δ = 3.83 (m, 5'-H), 4.1 – 4.7 (m, 2',3',4'-H), 6.13 (d, 1'-H, *J* = 5 Hz), 6.70 (d, 5-H, *J* = 4 Hz), 7.33 (d, 6-H, *J* = 4 Hz), 7.67 (s, 2-H).

Literatur

- ¹) P. F. Torrence, E. De Clercq, J. A. Waters und B. Witkop, *Biochemistry* **13**, 4400 (1974); M. Ikehara, T. Fukui, T. Koide und J. Inaba, *Nucl. Acids Res.* **1**, 53 (1974).
- ²) H. Rosemeyer und F. Seela, *Carbohydr. Res.* **74**, 117 (1979).
- ³) Y. Mizuno, M. Ikehara, K. A. Watanabe und S. Suzuki, *J. Org. Chem.* **28**, 3331 (1963).
- ⁴) F. Seela und D. Winkeler, *Angew. Chem.* **91**, 570 (1979); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **18**, 536 (1979).
- ⁵) D. Winkeler und F. Seela, *Chem. Ber.* **113**, 2069 (1980).
- ⁶) R. Barker und H. G. Fletcher jr., *J. Org. Chem.* **26**, 4605 (1961).
- ⁷) J. Davoll, *J. Chem. Soc.* **1960**, 131.
- ⁸) F. Seela und R. Richter, *Chem. Ber.* **111**, 2925 (1978).
- ⁹) T. Kondo, T. Ohgi und T. Goto, *Agric. Biol. Chem.* **41**, 1501 (1977).
- ¹⁰) U. Lüpke, Dissertation, Univ. Paderborn 1979.
- ¹¹) F. Seela, U. Lüpke und D. Hasselmann, *Chem. Ber.* **113**, 2808 (1980).