

123. Synthese und Eigenschaften von Isopterinnucleosiden – Strukturanaloga des Cytidins. Nucleoside, X [1]

von **Klaus Harzer**¹⁾ und **Wolfgang Pfeleiderer**

Aus dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

Herrn Prof. Dr. *M. Viscontini* zum 60. Geburtstag gewidmet

(5. II. 1973)

Summary. Isopterin (**1**), its 6,7-diphenyl (**2**) and 4-dimethylamino derivative (**3**) react after silylation by hexamethyldisilazane with halogenoses **7** and **8** to the blocked isopterine-N-1-nucleosides **9**, **10**, **11**, **20** and **22**, which form the free ribosides **12**, **13** and **14** and 2-deoxyribosides **21** and **23** on saponification. The easy nucleophilic substitution of the 4-amino substituents allows the synthesis of further derivatives (**15**) as well as formation of lumazine nucleosides (**17** and **18**) by alkaline hydrolysis. The structures of the new compounds have been elucidated by UV. and NMR. spectroscopic investigations.

In Fortführung unserer Untersuchungen über die Direktglykosidierung von Pteridinen [1] [2] haben wir im Hinblick auf die Synthese von Cytidin-Analogen das Isopterin (**1**) sowie sein 6,7-Diphenyl-Derivat (**2**) und das 4-Dimethylamino-2-oxo-1,2-dihydropteridin (**3**) [3] wiederum der von *Birkofer* [4] [5] modifizierten *Hilbert-Johnson*-Reaktion [6] unterworfen. Hierzu wurden die Isopterine **1–3** zunächst in bekannter Weise durch längeres Kochen in Hexamethyldisilazan am O-Atom der Amidfunktion und am N-Atom der unsubstituierten Aminogruppe zu **4–6** silyliert. Die Struktur im Sinne des 4-Trimethylsilylamino-2-trimethylsiloxypteridins (**4**) wurde durch eine Elementaranalyse sowie einen UV.-spektrometrischen Vergleich mit 1-Methylisopterin [7] und 4-Amino-2-methoxypteridin (Fig. 1) sichergestellt und steht damit auch im Einklang mit den Befunden am Cytosin [8].

Die weiteren Umsetzungen der silylierten Pteridine **4–6** erfolgte in Benzol mit 2,3,5-Tri-O-benzoyl-1-brom-D-ribofuranose (**7**) in der Weise, dass zunächst die beiden Komponenten gelöst und dann unter Rühren HgBr₂ und HgO als Katalysatoren [9] zugegeben wurden. Die chromatographische Verfolgung der Reaktion zeigt einen recht einheitlichen Verlauf an, so dass nach mehrstündigem Kochen unter Rückfluss und anschliessender Abtrennung der Quecksilbersalze schon durch einmalige Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigester die 1-(2,3,5-Tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)isopterine **9–11** in Ausbeuten von 40–65% erhalten wurden.

Setzt man **4** in gleicher Weise mit 3,5-(Di-O-*p*-toluyl)-2-desoxy-ribofuranosylchlorid (**8**) um, so wird aus der säulenchromatographischen Isolierung zunächst wieder eine Fraktion erhalten, die sich erwartungsgemäss auf Grund des Fehlens des 2-Acyloxy-Substituenten in der Kohlenhydratkomponente als α,β-Anomerengemisch **20** + **22** identifizieren liess. Die beiden Anomeren konnten nur durch präparative Schichtchromatographie mittels Mehrfachentwicklung in Chloroform/Methanol getrennt werden. Es zeigte sich hierbei erneut, dass nicht nur das β-Anomere (**22**) in

¹⁾ Teil der Dissertation *K. Harzer*, Universität Konstanz 1971.

Analogie zu den Befunden in der Lumazin-2'-desoxyribosid-Reihe [1] wiederum den grösseren Rf-Wert zeigt, sondern auch das α -2-Desoxyribosid (**20**) in nahezu dreimal so hoher Ausbeute als Hauptreaktionsprodukt gebildet wird.

Die freien Isopterin-nucleoside **12–14**, **21** und **23** wurden durch Abspaltung der Acylreste mittels Natriummethylat [10] oder methanolischem Ammoniak [6] erhalten. Bei Anwendung letzterer Methode auf das 4-Dimethylamino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**11**) stellten wir bei der chromatographischen Verfolgung der Reaktion fest, dass hier zunächst das aus der Methylatspaltung her bekannte entacylierte Nucleosid **14** gebildet wird, dieses dann aber bei verlängerter Einwirkungsdauer des Ammoniaks ganz zugunsten eines neuen Reaktionsproduktes wieder verschwindet. Die Isolierung und Charakterisierung der Substanz lehrte, dass erstaunlicherweise in **14** ein Austausch der Dimethylamino- gegen die Aminogruppe unter Bildung von **12** stattgefunden hat. Die Umkehr der Reaktion durch Behandlung von **12** mit Dimethylamin ist uns unter den verschiedensten Reaktionsbedingungen nicht gelungen, wogegen die Einwirkung von methanolischem Methylamin auf **12** nach mehrtägigem Stehen das 4-Methylamino-2-oxo-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (**15**) in guter Ausbeute entstehen liess. Die leichte nucleophile Substituierbarkeit der 4-Aminogruppe im Isopterin-System [7] kann auch dazu benutzt werden, diese Reihe in Lumazin-nucleoside [3] umzuwandeln. Schon eintägiges Stehen in 0,1N KOH bei Raumtemperatur genügt, wie man durch chromatographischen Vergleich mit authentischen Materialien leicht feststellen kann, den 4-Aminosubstituenten in **12–15** durch die Hydroxylgruppe (**17 + 18**) zu ersetzen. Im Falle von **13** haben wir die Hydrolyse bei pH 13 im präparativen Maßstabe durchgeführt und konnten nach Behandlung bei Raumtemperatur bzw. kurzem Kochen unter Rückfluss das 6,7-Diphenyl-1- β -D-ribofuranosyllumazin (**18**) [1] in 82- bzw. 80proz. Ausbeute in Substanz isolieren und seine Identität mit authentischem Material [1] sicherstellen.

Umgekehrt lässt sich die 4-Oxogruppe der Lumazin-N-1-riboside wieder aminieren, wenn man – wie inzwischen auch an anderen Nucleosiden [11] der heterocyclischen Reihe gezeigt wurde – zunächst silyliert und dann mit Ammoniak oder Aminen umsetzt. **18** wurde durch mehrstündiges Kochen in Hexamethyldisilazan in **19** übergeführt, das bei Behandlung mit Ammoniak im Autoklaven 73% **13** und beim Kochen in Anilin das 4-Anilino-2-oxo-6,7-diphenyl-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (**16**) lieferte.

Bei der Strukturermittlung der Isopterin-nucleoside spielten neben ihrer Verseifbarkeit zu Lumazin-nucleosiden UV.-spektroskopische Vergleiche mit Modells-substanzen [12] eine entscheidende Rolle (Tab. 1). Die Gegenüberstellung der UV.-Spektren von **12** und 4-Amino-2-oxo-1-methyl-1,2-dihydro- bzw. 4-Amino-2-methoxypteridin (Fig. 1) sowie der entsprechenden 6,7-Diphenyl-Derivate (Fig. 2) unterstreicht nicht nur eindeutig die N(1)-Substitution, sondern lässt auch die aus der Lumazin-nucleosid-Reihe her bekannte hypsochrome Verschiebung der Spektren bei Austausch eines N(1)-Alkyl- gegen einen Glycosylrest erkennen.

Aufschluss über die Stereochemie der glykosidischen Bindungen geben einmal der Syntheseweg, der für die Ribosid-Reihe auf Grund der *Tipson-Baker*'schen «*trans*-Regel» [13] eine β -Konfiguration begünstigt und zum andern die NMR.-spektroskopischen Untersuchungen, die durch die fehlende Aufspaltung des H(1')-Signals in den

Tab. 1. *Physikalische Daten von Isopterin-Derivaten*

	pK-Werte in H ₂ O bei 20°	UV.-Absorptionsspektren		log ε	pH- Wert	Mole- kel- arta)			
		λ _{max} (nm)							
4-Amino-2-methoxypteridin [12]	3,25 ± 0,07	234	[262]	329	4,08	[3,59]	3,97	0,0	+
		245	[272]	340	4,24	[3,47]	3,81	7,0	0
1-Methylisopterin [12]	2,79 ± 0,05	239	205	342	4,14	3,91	3,91	0,0	+
		245	287	344	4,18	3,60	3,93	7,0	0
4-Amino-2-oxo-1-β-D-ribofuranosyl- 1,2-dihydropteridin (12)	2,75 ± 0,03	236	204	328	4,22	3,95	3,95	0,0	+
		241	284	332	4,17	3,74	3,93	7,0	0
4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy-α- bzw. β-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (21, 23)	2,30 ± 0,03	236		332	4,14	3,91	3,91	0,0	+
		242	285	333	4,12	3,70	3,89	7,0	0
4-Methylamino-2-oxo-1-β-D-ribofuranosyl- 1,2-dihydropteridin (15)	1,95 ± 0,04	242		332	4,14	3,91	3,91	0,0	+
		245	300	339	4,05	3,74	3,91	7,0	0
4-Dimethylamino-2-oxo-1,2-dihydro- pteridin	1,98 ± 0,03	247		336	4,05	3,98	3,98	0,0	+
		249	[307]	343	4,40	[3,82]	3,99	7,0	0
4-Dimethylamino-2-oxo-1-β-D-ribo- furanosyl-1,2-dihydropteridin (14)	1,98 ± 0,03	248		330	4,13	3,99	3,99	0,0	+
		249	207	337	4,41	3,97	3,97	7,0	0
4-Amino-1-methyl-2-oxo-6,7-diphenyl- 1,2-dihydropteridin [12]		221	272	374	4,43	4,33	4,21	MeOH	0
		222	282	383	4,46	4,23	4,18	0,0	0
		222	278	374	4,36	4,30	4,20	7,0	0

4-Amino-2-methoxy-6,7-diphenyl- pteridin [12]	[220] 222	257 255	[278] [278]	372 370	[4,43] 4,36	4,28 4,26	[4,25] [4,20]	4,10 4,12	MeOH 7,0	0 0
4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1- β -D-ribo- furanosyl-1,2-dihydropteridin (13)	2,40 \pm 0,09 222 210	282 273	377 371	4,44 4,68	4,21 4,38	4,15 4,24	0,0 7,0			+ 0
4-Anilino-2-oxo-6,7-diphenyl-1- β -D-ribo- furanosyl-1,2-dihydropteridin (16)	229	280	385	4,53	4,22	4,27	MeOH			0
4-Amino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydro- pteridin (9)	246	287	338	4,12	3,62	3,97	MeOH			0
4-Dimethylamino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O- benzoyl)- β -D-ribofuranosyl)-1,2- dihydropteridin (11)	228	283	335	4,72	3,76	3,98	MeOH			0
4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1-(2,3,5- tri-O-benzoyl)- β -D-ribofuranosyl)-1,2- dihydropteridin (10)	228	274	370	4,85	4,44	4,20	MeOH			0
4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy-3,5-di-O- toluoyl)- β -D-ribofuranosyl)-1,2- dihydropteridin (20)	252	278	340	4,67	3,84	3,92	MeOH			0
4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy-3,5-di-O- toluoyl)- β -D-ribofuranosyl)-1,2- dihydropteridin (22)	252	278	340	4,65	3,76	3,89	MeOH			0

+ = Monokation, 0 = Neutalmolekel, [] Schulter.

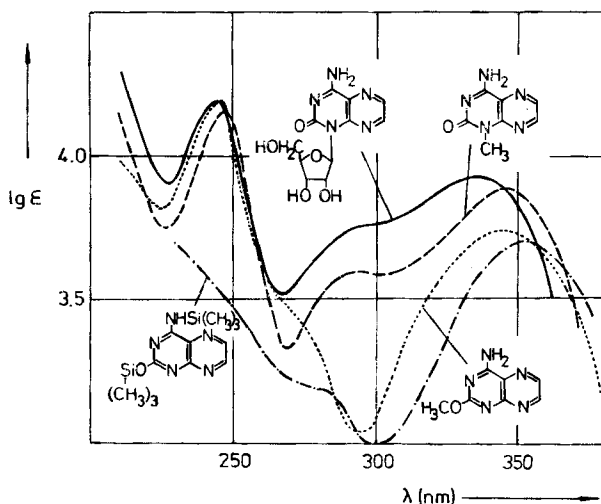


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektren der Neutalmolekeln des Isopterin-N-1- β -D-ribofuranosids (**12**) —, des 1-Methyl-isopterin — — — — und 4-Amino-2-methoxypteridins in Methanol und des 4-Tri-methylsilylamino-2-trimethylsiloxypteridins (**4**) - · - · - · in n-Hexan

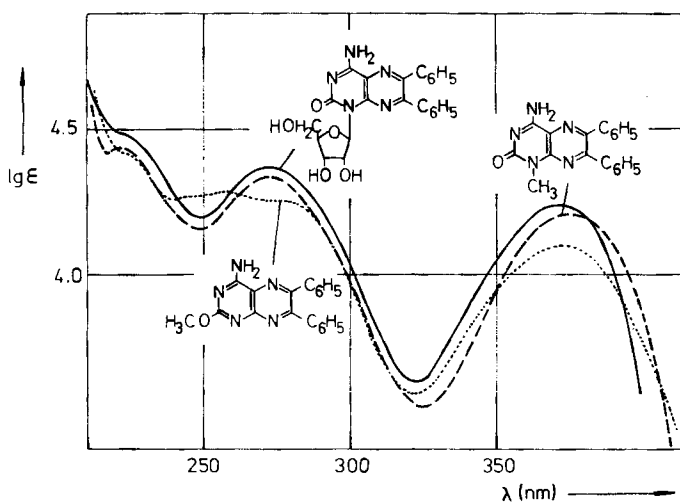


Fig. 2. UV.-Absorptionsspektren der Neutalmolekeln des 4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydro- (**13**) —, 4-Amino-1-methyl-2-oxo-6,7-diphenyl-1,2-dihydro- — — — — und 4-Amino-2-methoxy-6,7-diphenylpteridins in Methanol

benzoylierten Isopterin-ribosiden **9–11** die β -Struktur [14] unterstreichen. Die entacylierten Nucleoside **12–15** sind dagegen für eine Konfigurationsermittlung nicht direkt geeignet, da in ihnen die Flexibilität des Furanoseringes die Kopplungskonstante des jeweiligen anomeren Protons mit $J_{1-2'} \sim 4$ Hz in einen nach der Karplus-Beziehung [15] nicht eindeutig charakterisierten Bereich verschiebt.

Die Konfigurationszuordnung der beiden Anomeren Isopterin-2'-desoxy- α - und - β -ribofuranoside **21** und **23** basiert ebenfalls auf NMR.-Spektren. Die Auflösung der 60 MHz-Aufnahmen reicht hier allerdings für eine eindeutige Festlegung noch nicht aus, sofern man sich nicht mit den geringfügigen Unterschieden der bei 7,0 bzw. 7,2 ppm zentrierten chemischen Verschiebungen der als jeweils Pseudotriplets auftretenden H(1')-Signale als Bezugssystem für die β - bzw. α -Konfiguration zufrieden gibt. Ein klareres Bild vermitteln die 100 MHz-Spektren, da jetzt das Tieffeld-Signal erwartungsgemäss in ein Quadruplett mit Kopplungskonstanten von $J_{1'-2'} = 7$ und $J_{1'-2''} = 14$ Hz und einer Pikbreite von 21 Hz aufspaltet, während das Pseudotriplett bei 7 Hz mit der Pikbreite 14 Hz erhalten bleibt. Diese Befunde haben ihre Parallele in der Pyrimidin-2'-desoxy- [16] und Purin-2'-desoxyribonucleosid-Reihe [17] und rechtfertigen damit die getroffene Konfigurationszuordnung.

Für die Unterstützung dieser Arbeit danken wir der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie*. Ferner gilt unser Dank den chem.-techn. Assistentinnen Fräulein *M. Schrammer* für wertvolle experimentelle Hilfe und Frau *M. Bischler* für die Bestimmung von physikalischen Daten.

Experimenteller Teil

Die UV.-Absorptionsspektren wurden mit einem *Cary*-Recording-Spektrophotometer, Modell 15, der Firma *Applied Phys. Corp.* und die NMR.-Spektren mit einem *Varian A60A*- bzw. HA-100-Gerät aufgenommen. Die analytischen, dünn-schichtchromatographischen Untersuchungen wurden auf Kieselgel-Folien der Fa. *Machery-Nagel* durchgeführt. Für die präparativen chromatographischen Trennungen wurde *Merck* Kieselgel, für die präparative Dünn-schichtchromatographie PF₂₅₄ ohne Gips bzw. Kieselgel für die Säulenchromatographie, Korngrösse 0,05–0,2 mm, verwendet.

Die Smp. sind nicht korrigiert.

4-Trimethylsilylamino-2-trimethylsiloxy-pteridin (**4**). 5,3 g Isopterin (4-Amino-2-oxo-1,2-dihydropteridin) (**1**) [12] werden in 20 ml Hexamethyldisilazan (HMDS) 24 Std. bei einer Badtemp. von 145° am Rückfluss gekocht. Danach wird das überschüssige HMDS im Wasserstrahlvakuum in der Weise überdestilliert, dass zwischen Wasserstrahlpumpe und Destillationsapparatur ein Calciumchloridrohr geschaltet wird. Anschliessend destilliert man den Rückstand im Hochvakuum und erhält bei 135–140°/0,001 Torr 9,78 g (98%) eines hellgelben, zähflüssigen Produktes, das anschliessend zu einer festen Masse erstarrt.

C₁₂H₂₁N₅O_{Si}₂ (307,5) Ber. C 46,88 H 6,88 N 22,78% Gef. C 46,44 H 6,90 N 22,61%

4-Amino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**9**): 9,6 g 4-Trimethylsilylamino-2-trimethylsiloxy-pteridin (**4**) werden mit 21,2 g 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzoyl-ribose (**7**) [18] in 600 ml abs. Benzol gelöst. Nach Zugabe von 8,75 g HgO und 8,75 g HgBr₂ wird 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen wird vom Ungelösten abgesaugt, das Filtrat eingengt, der Rückstand in 300 ml Chloroform gelöst und dann 3mal mit je 450 ml 20-proz. KJ-Lösung ausgeschüttelt. Die vereinigten wässrigen Phasen werden nochmals mit je 150 ml Chloroform extrahiert, dann die organischen Phasen vereinigt, mit Na₂SO₄ getrocknet und zum Sirup eingengt. Man nimmt in möglichst wenig Essigester auf und gibt auf eine präparative Kieselgelsäule (60 × 5 cm). Man entwickelt mit Essigester, wobei zunächst mit der Front der überschüssige Zucker eluiert wird, während **9** im Anschluss an den bei der Glykosidierungsreaktion gebildeten roten Farbstoff von der Säule kommt. Es ist zweckmässig, die einzelnen Eluate dünn-schichtchromatographisch auf Einheitlichkeit zu prüfen. **9** zeigt auf Kieselgel einen Rf-Wert von 0,35 und absorbiert unter UV.-Licht bei 254 und 365 nm. Nach Einengen der Hauptfraktion und Trocknen im Vakuumexsiccator erhält man 9,3 g (49%) chromatographisch reines, farbloses, amorphes Produkt vom Smp. 105–120°. Für die Analyse wurden 0,4 g aus 10 ml 1-Propanol umgelöst und dabei 0,28 g amorphes Pulver zurückgewonnen.

C₂₂H₂₇N₅O₁₀ (521,4) Ber. C 63,26 H 4,15 N 11,53% Gef. C 63,10 H 4,11 N 11,36%

4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (10). 3,0 g 4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1,2-dihydropteridin (**2**) [12] werden durch 24stdg. Kochen in 20 ml HMDS zu **5** silyliert. Anschliessend wird das überschüssige Silylierungsmittel abgezogen und der Rückstand mit 4,0 g 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzoylribofuranose (**7**) [18] in 300 ml abs. Benzol gelöst. Man gibt dann je 2,25 g HgO und HgBr₂ zu, kocht 5 Std. unter Rückfluss, saugt von den ungelösten Quecksilbersalzen ab und engt das Filtrat ein. Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform gelöst, 3mal mit je 200 ml 20proz. KJ-Lösung ausgeschüttelt, die vereinigten wässrigen Phasen nochmals mit Chloroform extrahiert und nach erneuter Trennung der Schichten die organischen Phasen gemeinsam über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Einengen löst man den Rückstand in wenig Essigester, gibt auf eine präparative Kieselgelsäure (60 × 5 cm) und entwickelt in einem Gemisch Essigester/Chloroform 15:5. Der überschüssige Zucker läuft mit der Front, und anschliessend wird **10** eluiert, welches im Dünnschichtchromatogramm auf Kieselgel mit Essigester einen Rf-Wert von 0,63 zeigt. Die Hauptfraktion wird eingengt (2,74 g) und zur weiteren Reinigung aus 120 ml Äthanol umkristallisiert, wobei 1,84 g (39%) hellgelbliche Kristalle vom Smp. 198° erhalten werden.

C₄₄H₃₃N₅O₈ · H₂O (777,8) Ber. C 67,95 H 4,54 N 9,07% Gef. C 67,66 H 4,49 N 9,23%

4-Dimethylamino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (11). 3,9 g 4-Dimethylamino-2-oxo-1,2-dihydropteridin (**3**) [12] werden durch 24stdg. Kochen in 15 ml HMDS bei einer Badtemp. von 145° silyliert. Anschliessend wird das überschüssige Silylierungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand ohne weitere Reinigung mit 9,5 g 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose (**7**) [18] und je 5 g HgO und HgBr₂ in 400 ml abs. Benzol zur Reaktion gebracht. Nach 6 Std. Kochen unter Rückfluss werden die ungelösten Quecksilbersalze abgesaugt, das Filtrat eingengt, der Rückstand in 200 ml Chloroform aufgenommen und dann 3mal mit je 300 ml 20proz. KJ-Lösung ausgeschüttelt. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dann nochmals mit 100 ml Chloroform extrahiert und anschliessend die organischen Phasen gemeinsam über Na₂SO₄ getrocknet. Man engt ein, nimmt den Rückstand in möglichst wenig Essigester auf und gibt auf eine präparative Kieselgelsäule (60 × 5 cm) auf. Beim Entwickeln mit Essigester wird zunächst der überschüssige Zucker eluiert und dann kommt das Reaktionsprodukt **11**, das im Dünnschichtchromatogramm auf Kieselgel im selben Lösungsmittel einen Rf-Wert von 0,56 zeigt. Man engt erneut ein, trocknet im Vakuum und erhält so 8,42 g (65%) chromatographisch reines, amorphes Produkt vom Smp. 103°.

C₃₄H₂₉N₅O₈ (635,6) Ber. C 64,24 H 4,60 N 11,02% Gef. C 64,04 H 4,54 N 10,82%

4-Amino-2-oxo-1-β-D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (12). a) 4,36 g 4-Amino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**9**) werden in 250 ml 0,005 N Natriummethylat-Lösung 2 Tage bei Raumtemp. gerührt. Man gibt dann 20 ml Wasser zu, neutralisiert mit Essigsäure und rotiert zur Trockne ein. Man wiederholt das Einrotieren noch 4mal mit je 30 ml Wasser und kristallisiert dann den Rückstand aus 50 ml Wasser um. Es werden so 1,77 g (75%) farblose Kristalle vom Smp. 148° erhalten.

C₁₁H₁₃N₅O₅ · H₂O (331,3) Ber. C 42,17 H 4,83 N 22,36% Gef. C 42,22 H 4,77 N 21,80%

b) 1,0 g 4-Dimethylamino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**11**) wird in 100 ml abs. Methanol gelöst, dann bei 0° mit Ammoniak gesättigt und 14 Tage bei Raumtemp. stengelassen. Man engt zur Trockne ein und wiederholt diesen Prozess noch 4mal mit je 20 ml Wasser. Das Rohprodukt (0,34 g) liefert nach Umkristallisation aus 10 ml Wasser 0,293 g (56%) farblose Kristalle vom Smp. 145–146°.

C₁₁H₁₃N₅O₅ · H₂O (331,3) Ber. C 42,17 H 4,83 N 22,36% Gef. C 41,97 H 4,74 N 22,09%

4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1-β-D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (13). a) 1,67 g 4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**10**) werden in 100 ml 0,005 N Natriummethylat-Lösung 24 h bei Raumtemp. gerührt. Der abgeschiedene Niederschlag wird gesammelt und liefert nach Umkristallisation aus Methanol 0,753 g (77%) hellgelbe Nadeln, die sich ab 250° unter Dunkelfärbung zersetzen.

C₂₃H₂₁N₅O₅ (447,4) Ber. C 61,74 H 4,73 N 15,65% Gef. C 61,70 H 4,63 N 15,46%

b) 0,2 g 6,7-Diphenyl-1-β-D-ribofuranosyl-lumazin (**18**) [1] werden in 10 ml HMDS und Zugabe weniger Kristalle Ammoniumsulfat durch 16stdg. Kochen im Ölbad bei 150° zu **19** silyliert. In

einem 100-ml-Autoklaven werden unter Feuchtigkeitsausschluss bei -80° ca. 10 ml flüssiges Ammoniak kondensiert, die gekühlte Silylierungslösung zugegeben und dann 3 Tage auf 100° erhitzt, wobei sich ein Druck von ca. 40 Atm. einstellt. Danach wird eingengt, der Rückstand 6 Std. in 100 ml Methanol am Rückfluss gekocht und dann erneut abrotiert. Man digeriert mit 100 ml Methanol, saugt ab (0,185 g) und kristallisiert zur weiteren Reinigung aus 150 ml Methanol/Wasser 1:1 um, wodurch 0,145 g (73%) gelbliche Kristalle vom Smp. 249° (Zers.) erhalten werden. Das Produkt ist chromatographisch und UV.-spektrometrisch mit a) identisch.

4-Dimethylamino-2-oxo-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (14). 5,25 g 4-Dimethylamino-2-oxo-1-(2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**11**) werden in 300 ml 0,005 N Natriummethylatlösung 2 Tage bei Raumtemp. gerührt. Man neutralisierte mit Essigsäure, engt zur Trockne ein und wiederholt das Einrotieren noch 4mal mit je 20 ml Wasser. Das Rohprodukt (2,75 g) ergibt nach Umkristallisation aus 1,2 l 2-Propanol bei partiellem Einengen auf 400 ml insgesamt 2,12 g (80%) farblose Kristalle vom Smp. 186° .

$C_{13}H_{17}N_5O_5$ (323,2) Ber. C 48,29 H 5,30 N 21,66% Gef. C 48,10 H 5,21 N 21,89%

4-Methylamino-2-oxo-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (15). 0,3 g 4-Amino-2-oxo-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (**12**) werden in 200 ml abs. Methanol suspendiert, dann bei 0° mit trockenem Methylamin gesättigt und 7 Tage bei Raumtemp. gerührt. Der abgeschiedene Niederschlag (0,045 g) wird abgesaugt und durch Einengen auf $\frac{1}{3}$ des Volumens eine zweite Fraktion (0,12 g) gewonnen. Durch Umkristallisieren aus 65 ml Methanol erhält man 0,155 g (58%) farblose Kristalle vom Smp. 243° .

$C_{12}H_{15}N_5O_5$ (309,3) Ber. C 46,60 H 4,89 N 22,65% Gef. C 46,38 H 4,91 N 22,47%

4-Anilino-2-oxo-6,7-diphenyl-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (16). 0,2 g 6,7-Diphenyl-1- β -D-ribofuranosyllumazin (**18**) [1] werden in 10 ml HMDS unter Zugabe weniger Kristalle Ammoniumsulfat 16 Std. bei $150-160^{\circ}$ Ölbadtemp. am Rückfluss gekocht. Abschliessend wird das überschüssige Silylierungsmittel bei 80° im Vakuum abgezogen und der sirupöse Rückstand mit 2 ml trockenem, frisch destilliertem Anilin 30 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen setzt man 30 ml Methanol zu und erhitzt weitere 7 Std. unter Rückfluss. Nach Einengen wird der sirupöse Rückstand in möglichst wenig Dimethylformamid gelöst und auf drei präparative Kieselgelplatten ($40 \times 20 \times 0,2$ cm) aufgetragen. Nach Entwickeln mit Chloroform/Methanol 20:1 erhält man drei Hauptzonen, von denen die am kürzesten laufende Zone 0,11 g Ausgangsprodukt und die mittlere Zone das Reaktionsprodukt **16** enthält. Nach Elution, Einengen und Umkristallisation aus Äthanol erhält man 0,02 g (9%) gelbliche Kristalle vom Smp. 289° .

$C_{29}H_{25}N_5O_5$ (523,6) Ber. C 66,53 H 4,81 N 13,39% Gef. C 66,60 H 4,87 N 13,38%

6,7-Diphenyl-1- β -D-ribofuranosyllumazin (18) [1]. a) 0,1 g 4-Amino-2-oxo-6,7-diphenyl-1- β -D-ribofuranosyl-1,2-dihydropteridin (**13**) werden in einem Gemisch aus 3 ml Äthanol und 10 ml 0,1 N KOH suspendiert und 24 Std. bei Raumtemp. gerührt. Man filtriert von wenig Ungelöstem ab und säuert das Filtrat mit Essigsäure an. Nach Reiben mit einem Glasstab und Stehen über Nacht im Eisschrank scheiden sich zunächst 0,067 g und nach partiellem Einengen weitere 0,015 g chromatographisch reines **16** in Form farbloser Kristalle (82%) vom Smp. 235° ab (Lit. [1] Smp. $234-236^{\circ}$).

b) 0,1 g **13** werden in 5 ml 0,1 N KOH 10 Min. unter gelindem Sieden am Rückfluss gekocht. Man lässt abkühlen, säuert mit Essigsäure an, kocht kurz auf und filtriert von ungelösten Flocken ab. Beim Abkühlen und Stehen im Eisschrank scheiden sich 0,08 g (80%) farblose Kristalle vom Smp. 235° ab. Die Produkte a) und b) sind chromatographisch und UV.-spektroskopisch mit authentischem Material identisch.

4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy-3,5-di-O-p-toluoyl- α -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (20) und *4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy-3,5-di-O-p-toluoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (22)*. 9,78 g 4-Trimethylsilylamino-2-trimethylsiloxy-pteridin (**4**) werden mit 13,0 g 2-Desoxy-3,5-di-O-p-toluoyl-D-erythropentosyl-chlorid (**8**) [19] in 600 ml abs. Benzol gelöst und nach Zugabe von je 8 g HgO und HgBr₂ 5 h unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen saugt man vom Ungelösten ab, engt das Filtrat ein und nimmt den Rückstand in 300 ml Chloroform auf. Man schüttelt 3mal mit je 450 ml 20proz. KJ-Lösung aus, vereinigt die wässrigen Schichten und extrahiert sie mit 150 ml Chloroform. Die organischen Phasen werden gemeinsam über Na₂SO₄ getrocknet, eingengt und der sirupöse Rückstand in wenig Essigester gelöst. Es wird auf eine präparative Kieselgelsäure ($60 \times$

5 cm) aufgetragen und mit Essigester/Aceton 7:3 entwickelt. Zunächst wird der überschüssige Zucker eluiert, und dann erscheint das Anomerengemisch **20** + **22** in einer breiten Zone mit einem Rf-Wert von 0,35 im Dünnschichtchromatogramm auf Kieselgel im selben System. Diese Fraktion wird erneut eingengt, der Rückstand in wenig Chloroform gelöst und dann auf 18 präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0,2 cm) aufgetragen. Man erreicht eine Auftrennung der Anomeren durch viermalige Entwicklung mit Chloroform/Methanol 96:4, wodurch im Bereich 12–16 cm zwei Hauptzonen erhalten werden.

a) Aus der vorlaufenden Zone erhält man nach Elution mit Essigester und Einengen 2,98 g (18%) chromatographisch reines **20**, das zur Entacylierung eingesetzt werden kann. Für die Analyse wurde eine kleine Menge aus Äthanol umkristallisiert und ergab farblose Kristalle vom Smp. 132°.

$C_{27}H_{25}N_5O_6$ (515,5) Ber. C 62,90 H 4,89 N 13,59% Gef. C 62,87 H 5,04 N 13,28%

b) Die langsamer laufende Zone (12–14 cm) liefert nach Essigesterelution und Einengen 1,08 g (7%) chromatographisch reines **22**. Die Umkristallisation aus Äthanol liefert ein farbloses, partiell amorphes Material vom Smp. 127°.

$C_{27}H_{25}N_5O_6$ (515,5) Ber. C 62,90 H 4,89 N 13,59% Gef. C 62,40 H 5,11 N 13,23%

4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy- α -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**21**). 0,5 g **20** werden in 50 ml 0,005N Natriummethylatlösung 24 Std. bei Raumtemp. gerührt. Man neutralisiert mit Essigsäure, engt zur Trockne ein und wiederholt das Einrotieren noch 4mal mit je 10 ml Wasser. Umkristallisation des Rückstands aus 45 ml Äthanol ergibt 0,17 g (65%) farblose Kristalle, die sich ab 200° unter Dunkelfärbung zersetzen.

$C_{11}H_{13}N_5O_4$ (279,3) Ber. C 47,31 H 4,69 N 25,04% Gef. C 47,34 H 4,81 N 24,78%

4-Amino-2-oxo-1-(2-desoxy- β -D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropteridin (**23**). 0,5 g **22** werden analog vorstehend behandelt. Der einrotierte Rückstand ergibt nach Umkristallisation aus 50 ml Äthanol 0,162 g (60%) farblose Kristalle, die sich ab 200° unter Dunkelfärbung zersetzen.

$C_{11}H_{13}N_5O_4$ (279,3) Ber. C 47,31 H 4,69 N 25,04% Gef. C 47,14 H 4,64 N 25,09%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] IX. Mitt., G. Ritzmann & W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 106, 1401 (1973).
- [2] W. Pfeleiderer, D. Autenrieth & M. Schraner, Chem. Ber. 106, 317 (1973).
- [3] G. Ritzmann, K. Harzer & W. Pfeleiderer, Angew. Chem. 83, 975 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. 10, 932 (1971).
- [4] L. Birkofer, A. Ritter & H. P. Köhlhau, Chem. Ber. 97, 934 (1964).
- [5] L. Birkofer & A. Ritter, Angew. Chem. 77, 414 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. 4, 417 (1965).
- [6] G. E. Hilbert & T. B. Johnson, J. Amer. chem. Soc. 52, 4489 (1930); J. Pliml & M. Prystas, Advances heterocycl. Chem. 8, 115 (1967).
- [7] W. Pfeleiderer & H. Fink, Chem. Ber. 96, 2950 (1963).
- [8] T. Nishimura & I. Iwai, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 13N 357 (1964).
- [9] E. Wittenburg, Chem. Ber. 101, 1095 (1968).
- [10] G. Zemplen, A. Gerecs & I. Hadacsy, Ber. deutsch. chem. Ges. 69, 1827 (1936).
- [11] H. Vorbrüggen & U. Niedballa, Angew. Chem. 83, 729 (1971).
- [12] W. Pfeleiderer & H. Fink, Chem. Ber. 96, 2950 (1963).
- [13] R. S. Tipson, J. biol. Chemistry 130, 55 (1939); R. R. Baker, Ciba Foundaton Symposium, Chemistry and Biology of Purines, S. 120, J. & A. Churchill Ltd. London 1957.
- [14] R. U. Lemieux & J. W. Lown, Canad. J. Chemistry 41, 889 (1963).
- [15] L. D. Hall, Advances Carbohydrate Chem. 19, 51 (1964).
- [16] R. U. Lemieux & M. Hoffer, Canad. J. Chemistry 39, 110 (1961); R. U. Lemieux, Canad. J. Chemistry 39, 116 (1961).
- [17] M. J. Robins & R. K. Robins, J. Amer. chem. Soc. 87, 4934 (1965).
- [18] J. D. Stevens, R. Ness & H. G. Fletcher, J. org. Chemistry 33, 1809 (1968).
- [19] C. C. Bhat in «Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry», S. 521, Edit. W. W. Zor-bach und R. S. Tipson, Interscience Publishers (1968).