

erhaltenen Kristalle waren hinsichtlich Schmelzpunkts ( $90-91^\circ$ ) und Drehung identisch.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-166.6^\circ$  ( $c = 1.02$ , in Chloroform);  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-184.7^\circ$  ( $c = 0.72$ , in Methanol).

**Reinigung durch Gegenstromverteilung:** Ein Lösungsmittelgemisch aus 240 ccm Methanol, 210 ccm Chloroform, 105 ccm Benzin ( $90-100^\circ$ ) und 66 ccm Wasser wurde gut geschüttelt und 24 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen; dann war vollständige Sättigung beider Phasen eingetreten. Beide Phasen wurden getrennt, in 20 ccm Unterphase wurde 1 g des Desoxyribose-triacetat-Sirups gelöst und mit 20 ccm Oberphase 3 Min. geschüttelt. Die Absitzzeit betrug 60–70 Min. Die Oberphasen wurden auf 25 ccm ergänzt und der Drehwert im 1-dm-Rohr (Methanol) gemessen. Dabei ergab sich in einer dreistufigen, von Hand vorgenommenen Ausschüttelung eine Verteilung mit folgenden Werten:

- I. Oberphase:  $-0.023^\circ$ , Unterphase:  $-0.720^\circ$
- II. Oberphase:  $-0.138^\circ$ , Unterphase:  $-0.720^\circ$
- III. Oberphase:  $-0.088^\circ$ , Unterphase:  $-0.339^\circ$

Die Übertragung dieser Methodik auf eine hundertstufige vollautomatische Verteilungsapparatur schlug fehl, da dort keine einwandfreie Phasentrennung zu erreichen war.

**Die Messung der kernmagnetischen Resonanz** erfolgte bei Raumtemperatur mit einem im Physikalischen Institut der Universität Jena gebauten Gerät. Etwa 50-proz. Lösungen von 1.2.3.5-Tetraacetyl- $\beta$ -D-ribofuranose, 1.2.3.4-Tetraacetyl- $\beta$ -D-ribofuranose und 1.3.5-Triacetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranose in Chloroform wurden bei einer Frequenz von 30 MHz, einer Feldstärke von 7050 Gauß und einem Auflösungsvermögen von  $\text{ca. } 1 \times 10^7$  gemessen. Die als Vergleich benutzten Riboseacetate waren kristallisiert, so daß jeweils ein einzelner genau definierter Kristall für jede der beiden Messungen verwendet wurde. Das gleiche war bei dem 2-DOR-Acetat der Fall; unser größter Kristall wog 108 mg. Sie entsprachen hinsichtlich Schmelzpunkt und optischer Drehung den unter 1. c.<sup>5)</sup> genannten Werten.

HARRY VENNER

## Synthese der den natürlichen entsprechenden 2-Desoxy-Nucleoside des Adenins, Guanins und Hypoxanthins

Aus dem Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie Jena  
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

(Eingegangen am 14. August 1959)

Die Synthese der 2-Desoxy-Nucleoside des Adenins, Guanins und Hypoxanthins wird beschrieben. Auf Grund des Syntheseweges aus dem entsprechenden 2-Desoxy-riboseacetat sowie den optischen und papierchromatographischen Eigenschaften ergibt sich Identität mit den durch Abbau aus natürlichem Material gewonnenen 2-Desoxy-Nucleosiden.

Es war naheliegend, die von uns erhaltene 1.3.5-Triacetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranose<sup>1)</sup> für die Synthese von 2-Desoxy-Nucleosiden einzusetzen, um die den natürlichen entsprechenden Glykoside zu erhalten. Als Syntheseweg wurde die zuerst von E. FISCHER

<sup>1)</sup> H. VENNER und H. ZINNER, Chem. Ber. **93**, 137 [1960], vorstehend.

und B. HELFERICH<sup>2)</sup> für die Darstellung der Puringlykoside gefundene Methode gewählt, die später von A. R. TODD und Mitarbb.<sup>3)</sup> auf die Darstellung der Purin-ribonucleoside übertragen wurde.

Gegen eine solche direkte Synthese der 2-Desoxy-Nucleoside wurden von verschiedenen Stellen Bedenken geäußert. Nach den Untersuchungen von A. R. TODD und Mitarbb.<sup>4)</sup> wird eine direkte Synthese der 2-Desoxy-Nucleoside für wenig aussichtsreich gehalten auf Grund der Labilität der Halide der 2-Desoxy-riboseacetate. In ähnlichem Sinne äußerte sich B. R. BAKER<sup>5)</sup> anlässlich des Ciba-Foundation-Symposiums 1956, daß die Dehydrohalogenierung eine stark kompetitive Reaktion gegenüber der glykosidischen Kupplung darstellen würde. Er sagte weiterhin voraus, daß bei Gelingen der Reaktion ein Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Nucleosiden erhalten werden müßte auf Grund des fehlenden stereochemisch dirigierenden Einflusses der 2-O-Acetylgruppe. Untersuchungen wurden praktisch jedoch nur an Pyranosidacetaten durchgeführt<sup>6)</sup>.

Auf Grund dieser Bedenken wurde von vornherein der Labilität der Halidacetate der 2-Desoxy-ribose Rechnung getragen, und die Reaktionsstufen wurden unter Verzicht auf eine Isolierung der Zwischenstufen schnell durchlaufen. Auch wurde jede  $p_H$ -Verschiebung in das stärker saure Gebiet nach Herstellung der glykosidischen Bindung peinlich vermieden.

Zunächst wurde das Silbersalz des 2.8-Dichlor-adenins (I) mit dem 1-Chlor-2-desoxy-ribofuranosid-diacetat zum Glykosid II umgesetzt, das anschließend mit methanolischem Ammoniak zum 2.8-Dichlor-2'-desoxy-adenosin (III) entacetyliert wurde. Daraus wurde das 2'-Desoxy-adenosin (IV) durch vollständige Hydrogenolyse erhalten; partielle Hydrogenolyse ergab das 2-Chlor-2'-desoxy-adenosin (V), das durch anschließende Behandlung mit Natriumnitrit in Essigsäure in das 2-Chlor-2'-desoxy-inosin (VI) überging. Dieses wurde entweder durch nochmalige Hydrogenolyse in das 2'-Desoxy-inosin (VII) oder durch Behandlung mit wäßrig-methanolischem Ammoniak im geschlossenen Rohr bei 150° in das 2'-Desoxy-guanosin (VIII) übergeführt.

Außerdem wurde aus den natürlichen Desoxy-Nucleosiden des Adenins und Guanins durch Behandeln mit Natriumnitrit und Essigsäure 2'-Desoxy-inosin (VII) und -xanthosin (IX) in kleinem Maßstab hergestellt — lediglich zum papierchromatographischen Vergleich ohne weitere Reinigung. So konnten die 2-Desoxy-Nucleoside des Adenins, Guanins und Hypoxanthins kristallin erhalten werden, das letztere allerdings nur in geringer Menge. Die Ausbeuten bis zur Gewinnung des 2.8-Dichlor-2'-desoxy-adenosins (III) betrugen etwa ein Drittel der von A. R. TODD und Mitarbb.<sup>3)</sup> für das entsprechende Ribosid erzielten. Da das 2.8-Dichlor-2'-desoxy-adenosin-diacetat (II) nur als

<sup>2)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. 47, 210 [1914].

<sup>3)</sup> J. DAVOLL, B. LYTGOE und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1948, 967; 1948, 1685.

<sup>4)</sup> D. M. BROWN, D. B. PARIHAR, A. R. TODD und S. VARADARAJAN, J. chem. Soc. [London] 1958, 3028; D. M. BROWN, D. B. PARIHAR, C. B. BREESE und A. R. TODD, ebenda 1958, 3035.

<sup>5)</sup> Ciba-Foundation-Symposium 1956, The chemistry and biology of Purines; J. & A. Churchill Ltd., London 1957, S. 120.

<sup>6)</sup> J. DAVOLL und B. LYTGOE, J. chem. Soc. [London] 1949, 2526.



2-Desoxy-Nucleosiden vorgenommen, wobei das papierchromatographische Verhalten, der Drehwert, die Extinktion und das Schmelzverhalten untersucht wurden. Für die synthetisierten 2-Desoxy-Nucleoside war die Identität des Purinteiles und des Zuckers sowie die Art der glykosidischen Verknüpfung zu beweisen.

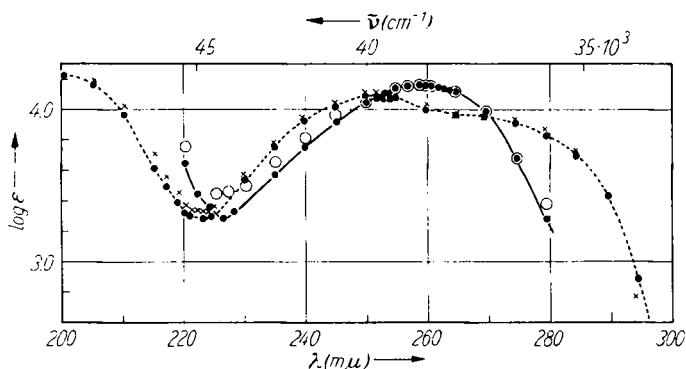


Abbildung 1. UV-Spektren von 2'-Desoxy-adenosin, natürlich: ● — ● — ●, synthetisch: Kreise; von 2'-Desoxy-guanosin, natürlich: ● — ● — ●, synthetisch: Kreuze. Lösungsmittel: Wasser

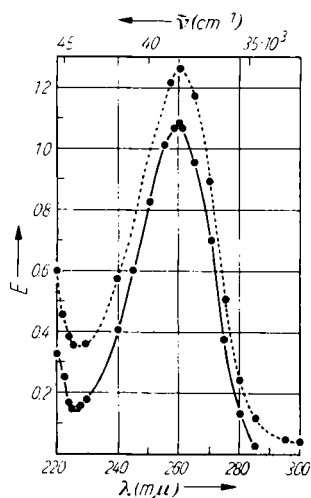


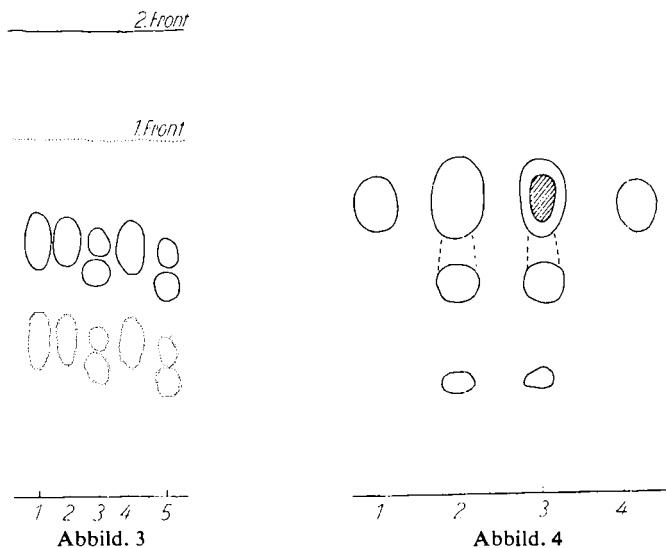
Abbildung 2.

UV-Spektren von 2'-Desoxy-adenosin nach Papierchromatographie, natürlich: ——— synthetisch: - - - - - Lösungsmittel: Wasser

Wie aus Abbild. 1 hervorgeht, sind die Spektren der synthetischen und natürlichen 2-Desoxy-Nucleoside des Adenins und Guanins gleich, wenn man von der geringfügigen Abweichung unterhalb von etwa 240 mμ bei 2'-Desoxy-adenosin absieht<sup>7)</sup>. Die Lage des Minimums ist hinsichtlich der Wellenlänge jedoch ebenfalls bei beiden Stoffen gleich.

<sup>7)</sup> Die Abweichung könnte unter Umständen auf den sich bei kürzeren Wellenlängen stärker bemerkbar machenden unterschiedlichen Streulichtanteil der verwendeten Spektrophotometer zurückzuführen sein, da das synthetische Produkt mit einem Zeiss-Spektrophotometer und das natürliche Produkt mit einem Hilger-Uvispek-Gerät vermessen wurde. Hingegen wurden beide 2'-Desoxy-guanosin-Werte am Hilger-Gerät gemessen.

Weiterhin wurden die 2-Desoxy-Nucleoside nach Papierchromatographie eluiert und ihre UV-Spektren mit gleichbehandelten, natürlichen 2-Desoxy-Nucleosiden verglichen. Dabei lassen sich, wie leicht aus der Abbild. 2 zu ersehen ist, auch bei 2'-Desoxy-adenosin beide Kurven innerhalb der Meßgenauigkeit über den gesamten Kurvenverlauf zur Deckung bringen<sup>8)</sup>.



Abbild. 3. Papierchromatographische Überprüfung der Reinheit von synthet. 2'-Desoxy-adenosin (Größe des Chromatogramms:  $18 \times 57$  cm). Aufgetragen: 1. und 2. Startpunkt: synthet. 2'-Desoxy-adenosin, 3. und 5. Startpunkt: natürliches 2'-Desoxy-adenosin + Adenin, 4. Startpunkt: Waschwasser von der Umkristallisation des synthet. 2'-Desoxy-adenosins

Abbild. 4. Untersuchung der Kristallisationsmutterlauge des synthet. 2'-Desoxy-adenosins (Größe des Chromatogramms:  $18 \times 28$  cm). Aufgetragen: 1. und 4. Startpunkt: natürl. 2'-Desoxy-adenosin, 2. und 3. Startpunkt: Mutterlauge des synthet. 2'-Desoxy-adenosins. Alle Flecken von 2 wurden nach Elution zur UV-Messung verwendet; 3 wurde auf 2-Desoxy-Zucker geprüft. Der mittlere und untere Fleck zeigten Endabsorption bei  $230 m\mu$  ohne erkennbares Maximum im Gebiet von  $250-270 m\mu$ . Lediglich der oberste Fleck von 2 zeigte den für 2'-Desoxy-adenosin charakteristischen Kurvenverlauf sowie bei 3 positive Reaktion auf 2-Desoxy-Zucker nach Hydrolyse (schraffiert)

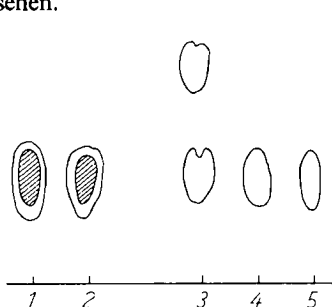
Für den Nachweis der 2-Desoxy-ribose wurden auf jedem Chromatogramm die Flecken eines Startes der synthetisierten Nucleoside mit Hilfe des für 2-Desoxy-Zucker bzw. -Glykoside spezifischen Testes (Borsäure/salzsaures Methanol) nach M. PÖHM und R. WEISER<sup>9)</sup> überprüft. Der erzielte graue Fleck befindet sich überall innerhalb der vorher mit Hilfe der Purinlampe festgelegten 2-Desoxy-Nucleosid-Flecke, wodurch gleichzeitig bewiesen wird, daß die glykosidische Bindung bis zur Hydrolyse bei der Anfärbung vorhanden war<sup>10)</sup>.

<sup>8)</sup> Beide Werte wurden am Hilger-Uvispek gemessen. Die unterschiedliche Höhenlage der Werte ergibt sich, da nur annähernd gleiche Mengen auf dem Chromatogramm aufgetragen wurden.

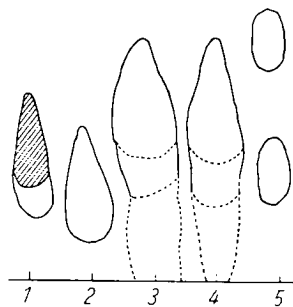
<sup>9)</sup> Naturwissenschaften **43**, 582 [1956].

<sup>10)</sup> Diese Technik wurde auch zur papierchromatographischen Überprüfung von Enzyminkubationen von Nucleinsäuren angewendet (unveröffentlicht).

Es wurde nun versucht, in der Mutterlauge der Syntheseprodukte weitere Nucleoside zu finden. Zwar konnten bei 2'-Desoxy-adenosin noch zwei weitere Flecke gefunden werden, diese färbten jedoch nicht mit Borsäure/Methanol und zeigten auch nur eine Endabsorption ohne irgendein Maximum in der Gegend von 230–280m $\mu$  bei der Messung des UV-Spektrums. Das gleiche gilt für die Nebenflecke der 2'-Desoxy-inosin-Mutterlauge. Von einer weiteren Überprüfung dieser Verunreinigung wurde abgesehen.



Abbild. 5



Abbild. 6

Abbild. 5. Chromatogramm von 2'-Desoxy-guanosin (Größe: 18  $\times$  25 cm). Aufgetragen: 1. und 4. Startpunkt: synthet. 2'-Desoxy-guanosin, 2. und 5. Startpunkt: desgl. Mutterlauge, 3. Startpunkt: natürl. 2'-Desoxy-guanosin und 2'-Desoxy-adenosin. Das UV-Spektrum der Flecke von Startpunkt 4 und 5 wurde nach Elution vermessen. Die Flecke von Startpunkt 1 und 2 wurden auf 2-Desoxy-Zucker überprüft (schraffiert)

Abbild. 6. Chromatogramm von 2'-Desoxy-inosin (Größe: 18  $\times$  28 cm). Aufgetragen: 1. und 2. Startpunkt: synthet. 2'-Desoxy-inosin, 3. und 4. Startpunkt: desgl. Mutterlauge, 5. Startpunkt: natürl. 2'-Desoxy-adenosin und 2'-Desoxy-guanosin. Das UV-Spektrum der 2 und 4 wurde vermessen; 1 und 3 wurden auf 2-Desoxy-Zucker geprüft (schraffiert). In der Mutterlauge zeigte kein Fleck positive Reaktion auf 2-Desoxy-Zucker, auch die UV-Messung ergab nur eine Endabsorption ohne Maximum

Tab. 1. Vergleich der physikalischen Daten  
der natürlichen (n) und synthetischen (s) 2-Desoxy-Nucleoside

		Schmelzpunkt	$[\alpha]_D$	$\epsilon_{\max} \cdot 10^{-3}$ $\lambda(m\mu)$	$\epsilon_{\min} \cdot 10^{-3}$ $\lambda(m\mu)$	$\frac{E_{280}}{E_{260}}$	$\frac{E_{250}}{E_{260}}$
2'-Desoxy-adenosin	n	168–169° (S)	–24.8°	14.8	2.0	0.13	0.77
		189–190°		259	226		
	s	166–168° (S)	–24.3°	14.9	2.8	0.16	0.80
		188–190°		259	226		
2'-Desoxy-guanosin	n	250° (B)	–30.0°	12.3	1.9	0.68	1.17
		301° (Z)		253	223		
	s	250° (B)	–30.2°	13.0	2.0	0.65	1.16
		301° (Z)		254	223		
2'-Desoxy-inosin*)	n	218–220° (Z)	—	—	—	—	—
	s	220° (Z)	—	—	—	—	—

\*) Literaturwert<sup>11)</sup>; alle übrigen natürlichen Vergleichssubstanzen wurden unter den gleichen Bedingungen wie die synthetisierten überprüft. Als Lösungsmittel diente überall Wasser. Die Meßtemperatur betrug 20–24°.

(S) = Sinterung (B) = Braunwerden (Z) = Zersetzung

<sup>11)</sup> O. SCHINDLER, *Helv. chim. Acta* **32**, 979 [1949]; P. REICHARD und B. ESTBORN, *Acta chem. scand.* **4**, 1047 [1950].

Was die glykosidische Verknüpfung anbelangt, dürfte von E. FISCHER und B. HELFERICH<sup>12)</sup> sowie von J. M. GULLAND<sup>12)</sup> hinlänglich bewiesen sein, daß bei dem gewählten Syntheseweg die Verknüpfung nur am N-9 erfolgt. Da weiterhin das als Ausgangsmaterial verwendete 2-Desoxy-ribose-triacetat Furanosidostruktur besaß<sup>11)</sup>, so bliebe nur die Frage der  $\alpha$ - oder  $\beta$ -glykosidischen Verknüpfung noch offen. Wie jedoch aus den Drehwerten hervorgeht, sind diese praktisch übereinstimmend, so daß, wie bei den natürlichen 2-Desoxy-Nucleosiden<sup>13)</sup>, die  $\beta$ -Struktur vorliegen muß.

Damit ist ein eindeutiger Nachweis für das Gelingen der direkten Synthese der 2-Desoxy-Nucleoside des Adenins und Guanins erbracht sowie ihre erste Synthese überhaupt. Nachdem die übrigen Nucleoside und Nucleotide beider Nucleinsäuren bisher schon synthetisch erhalten wurden, ist die noch bestehende Lücke nun geschlossen worden.

Für die Mithilfe bei den Versuchen danke ich Frl. U. TONNDORF. Weiterhin danke ich der Organisch-Analytischen Abteilung unseres Institutes für die Durchführung der Analysen sowie Herrn Dipl.-Phys. R. KÜHMSTEDT (Institut für Organische Chemie der Universität Jena) für die Messung einiger UV-Spektren.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*2.8-Dichlor-adenin-[ $\beta$ -D-2-desoxy-ribofuranosid-diacetat]-(9) (II):* 2 g 2-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosid-1,3,5-triacetat wurden in 40 ccm getrocknetem, mit Chlorwasserstoff bei 0° gesättigtem Äther gelöst und 3 Tage bei 0° stehengelassen. Die Lösung wurde i. Vak. eingeeengt und anschließend durch mehrmaliges Behandeln mit Benzol azeotrop getrocknet. Der farblose Sirup wurde dann mit 8 ccm getrocknetem Xylol aufgenommen und zu einer Suspension von 2.8-Dichlor-adenin-silber (erhalten aus 2.2 g 2.8-Dichlor-adenin) in 80 ccm getrocknetem Xylol gegeben und etwa 5 Stdn. unter Rückfluß unter Ausschluß der Luftfeuchtigkeit erhitzt. Bei längerem Sieden färbte sich das Gemisch braun. Anschließend wurde noch heiß über eine G 4-Fritte abgesaugt und die abgekühlte Lösung mit 280 ccm Pentan (35–50°) versetzt. Dabei schieden sich Kristalle am Boden ab. Die Pentanphase wurde abgegossen und i. Vak. zum Sirup eingeeengt. Die Kristalle wurden in wenig Alkohol warm gelöst und mit dem Sirup vereinigt. Gelegentlich wurde beim Ausfällen mit Pentan auch ein amorpher Niederschlag, mit Kristallen durchsetzt, erhalten. Ausb. 1.7 g (54.8% d. Th.) Rohprodukt. Die Kristalle schmolzen ohne weitere Reinigung bei 120–121°.

*2.8-Dichlor-adenin-[2-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosid]-(9) (III):* Der oben erhaltene Sirup wurde in 60 ccm getrocknetem Methanol gelöst, nach dem Abkühlen auf 0° mit 80 ccm methanol. Ammoniak (gesätt. bei 0°) versetzt und über Nacht bei 0° gehalten. Dazu wurde i. Vak. zum Sirup eingeeengt, in Wasser aufgenommen, mit Aktivkohle entfärbt und erneut i. Vak. zum Sirup eingeeengt, wobei die Temperatur 30° nicht überstieg. Es wurde nicht versucht, den Sirup zur Kristallisation zu bringen. Ausb. 320 mg Rohsirup mit einem Gehalt von ca. 160 mg III (siehe unten: Gesamtaufnahme an Wasserstoff) (11.9% d. Th.).

*2'-Desoxy-adenosin (Adenin-[2-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosid]-(9)) (IV):* 320 mg Rohsirup mit einem Gehalt von ca. 160 mg III (0.5 mMol) wurden als Sirup in 80 ccm Wasser gelöst und mit 3.0 ccm *n* NaOH und mit 0.85 g palladiertem Bariumsulfat<sup>3)</sup> 3 1/2 Stdn. bei 24°/749 Torr (korr.) hydriert; es wurden 25.4 ccm Wasserstoff, entspr. 1.00 mMol H<sub>2</sub> aufgenommen. Das Filtrat vom Katalysator wurde mit 19.5 ccm *n*/<sub>10</sub> HCl (entspr. 1.05 mMol NaOH) in der

<sup>12)</sup> J. chem. Soc. [London] 1938, 1722.

<sup>13)</sup> D. M. BROWN und B. LYTGOE, J. chem. Soc. [London] 1950, 1990.

Kälte neutralisiert (Phenolphthalein). Es wurde darauf geachtet, daß an dieser Stelle keine länger dauernde örtliche Übersäuerung erfolgte. Anschließend wurde eingengt und der Rückstand in wenig warmem Wasser gelöst. Nach Umkristallisieren aus Wasser und 24stdg. Trocknen über  $P_2O_5$  bei  $61^\circ/0.4$  Torr wurden 61.1 mg (45.4% d. Th.) IV mit 1 Mol. Kristallwasser erhalten. Das Präparat schmolz bei  $166-168^\circ$  unter Sintern, erstarrte dann erneut und schmolz schließlich bei  $188-190^\circ$ , auch im Gemisch mit natürlichem 2'-Desoxy-adenosin; länger getrocknete Proben zeigten die Sinterung nur undeutlich, schmolzen jedoch ebenfalls bei  $188-190^\circ$ .

$C_{10}H_{13}N_5O_3 \cdot H_2O$  (269.3) Ber. C 44.60 H 5.61 Gef. C 45.04 H 5.63

$[\alpha]_D^{25}$ :  $-24.3^\circ$  ( $c = 0.377$ , in Wasser).

Für das natürliche 2'-Desoxy-adenosin<sup>14)</sup> wurde unter gleichen Bedingungen gefunden:

$[\alpha]_D^{25}$ :  $-24.8^\circ$  ( $c = 0.395$ , in Wasser).

Literaturwert<sup>15)</sup>:  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-26.0^\circ$  ( $c = 1.0$ , in Wasser).

Extinktionswerte im UV: s. Tab. 1 und Abbild. 1.

2'-Desoxy-inosin (Hypoxanthin-[2-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosid]-(9)) (VII): Die Lösung von 100 mg Rohsirup mit einem Gehalt von ca. 50 mg III in 10 ccm 0.025  $n$  NaOH nahm in Gegenwart von 0.15 g palladiertem Bariumsulfat bei  $26^\circ/755$  Torr (korr.) während 5 Min. 1.6 ccm Wasserstoff (entspr. 0.083 mMol) auf. Das Filtrat vom Katalysator wurde mit 8.2 ccm 0.025  $n$  HCl vorsichtig neutralisiert (Phenolphthalein) und i. Vak. zur Trockne eingengt. Die Lösung des Rückstandes in 8.4 ccm Wasser wurde mit 0.3 g Natriumnitrit und 0.33 ccm Eisessig bei  $26^\circ$  8 Stdn. stengelassen. Nach erneuter Zugabe von 0.18 g Natriumnitrit und 0.3 ccm Eisessig wurde die Lösung über Nacht bei etwa  $20^\circ$  aufbewahrt. Anschließend wurde i. Vak. bei  $< 30^\circ$  eingengt. Der erhaltene Sirup (VI), in 25 ccm 0.025  $n$  NaOH gelöst und mit 0.15 g Katalysator versetzt, nahm innerhalb von 8–10 Min. 1.7 ccm Wasserstoff auf. Das Filtrat vom Katalysator wurde mit 23.9 ccm 0.025  $n$  HCl gegen Phenolphthalein neutralisiert. Die Lösung wurde über  $P_2O_5$  im Exsikkator auf die Hälfte eingedunstet, und die Kristalle, die noch stark mit NaCl verunreinigt waren, wurden abgesaugt. Sie wurden nach Lösen in Wasser durch dreimalige Adsorption an Aktivkohle und anschließendes 3maliges Eluieren mit Wasser gereinigt. Die Ausbeute betrug nur wenige Milligramm vom Schmp.  $220^\circ$  (Zers.), die zur papierchromatographischen Untersuchung (Abbild. 6) verwendet wurden.

2'-Desoxy-guanosin (Guanin-[2-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosid]-(9)) (VIII): Die Lösung von 320 mg Rohsirup mit einem Gehalt von ca. 160 mg III, gelöst in 40 ccm 0.025  $n$  NaOH, nahm in Gegenwart von 0.23 g palladiertem Bariumsulfat bei  $27^\circ/745$  Torr (korr.) während 12 Min. 12.8 ccm (etwa die Hälfte der bei der Hydrogenolyse zum 2'-Desoxy-adenosin benötigten Menge) auf. Aus dem Filtrat vom Katalysator wurde, wie bei der Darstellung von VII beschrieben, in den VI enthaltenden Sirup umgewandelt, dieser in 10 ccm Wasser gelöst, mit 0.86 g Bleiacetat und 2 ccm konz. Ammoniak versetzt. Der Niederschlag (0.21 g feucht) wurde in 10 ccm warmem Eisessig gelöst. Das überschüssige Blei wurde durch Behandeln mit Schwefelwasserstoff als Sulfid abgetrennt. Das Filtrat wurde i. Vak. eingengt und der Rückstand mit Äthanol. Ammoniak (18 ccm Äthanol, enthaltend 1.2 ccm Wasser, mit Ammoniak bei  $0^\circ$  gesättigt) 5 Stdn. im geschlossenen Rohr bei  $150^\circ$  erhitzt. Das Filtrat der abgekühlten Lösung wurde i. Vak. zur Trockne eingengt (0.052 g) und die Lösung des Rückstandes in 8 ccm heißem Wasser mit 0.8 g Bleiacetat und 1.5 ccm konz. Ammoniak versetzt.

<sup>14)</sup> Käufliches Produkt der California Foundation for Biochemical Research, Los Angeles, Calif., USA; Lot 151151.

<sup>15)</sup> W. ANDERSEN, C. A. DEKKER und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1952, 2721.



Der entstandene Niederschlag wurde erneut abgesaugt und nach Waschen in Wasser in 20 ccm 5-proz. Essigsäure gelöst. Die Lösung wurde mit Schwefelwasserstoff von Blei befreit und das Filtrat i. Vak. zur Trockne eingeengt. Die Lösung des Rückstandes in 12 ccm heißem Wasser wurde anschließend im Kühlschrank bei  $+2^\circ$  über Nacht aufbewahrt, wobei sich die für 2'-Desoxy-guanosin charakteristische Gallerte bildete, die sich bei etwa  $-10^\circ$  allmählich in schöne, lange Nadeln umwandelte. Nach Reinigung durch Umkristallisation und Trocknung über Nacht im Vakuum-Exsikkator über  $P_2O_5$  bei  $60^\circ$  betrug die Ausbeute 27 mg (22.2% d. Th.); Schmp.  $250^\circ$  (Bräunung,  $300-301^\circ$  Zers.), wie auch unter gleichen Bedingungen an natürlichem 2'-Desoxy-guanosin und im Gemisch mit diesem beobachtet.

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz nach Umkristallisation über festem NaOH getrocknet, wobei das Monohydrat erhalten wurde<sup>16)</sup>.

$C_{10}H_{13}N_5O_4 \cdot H_2O$  (285.3) Ber. C 42.10 H 5.30 Gef. C 42.32 H 5.39

$[\alpha]_D^{35}$ :  $-30.2^\circ$  ( $c = 0.201$ , in Wasser).

Für 2'-Desoxy-guanosin aus natürlichem Material<sup>17)</sup> wurde gefunden:

$[\alpha]_D^{35}$ :  $-30.0^\circ$  ( $c = 0.188$ , in Wasser).

Der Literaturwert<sup>11)</sup>, allerdings in  $n$  NaOH, beträgt  $[\alpha]_D$ :  $-47.7^\circ$  ( $c = 0.86$ ).

Die im UV gemessenen Extinktionswerte zeigt Tab. 1.

2'-Desoxy-xanthosin (IX) und 2'-Desoxy-inosin (VII) wurden aus natürlichem 2'-Desoxy-guanosin bzw. -adenosin hergestellt, indem je 0.1 g mit insgesamt 0.1 g Natriumnitrit und 0.1 ccm Eisessig, zugegeben in zwei Portionen, über Nacht stehengelassen wurden. Die Lösungen wurden i. Vak. auf etwa die Hälfte über  $P_2O_5$  eingedunstet. Die entstandenen amorphen Niederschläge wurden abgesaugt und nach Reinigung durch Adsorption an Aktivkohle papierchromatographisch untersucht.

Alle auf diese Weise hergestellten Verbindungen enthielten noch größere Mengen Ausgangs-Nucleosid, während bei 2'-Desoxy-xanthosin (IX) papierchromatographisch noch weitere 3 bis 4 Substanzen nachweisbar waren, die nicht weiter gekennzeichnet wurden.

#### Papierchromatographische Untersuchung

Als Papier wurde das dem Schleicher & Schüll No. 2043 b ähnliche WF 15 des VEB Spezialpapierfabrik Niederschlag (Erzgeb.) verwendet, welches aus chinesischen Linters gewonnen wird.

In den meisten Fällen wurde das von uns bereits früher für die Chromatographie von Kohlenhydraten angegebene Lösungsmittelgemisch Butanol/Aceton/Wasser/Ammoniak = 40:50:15:3<sup>18)</sup> verwendet, gelegentlich auch ein solches, bei dem Ammoniak durch *N*-Äthylpiperidin (gleiches Volumen) ersetzt war. Dies Gemisch trennt alle Nucleoside mit Ausnahme der beiden Paare Uridin/Cytidin und Adenosin/Cytosin-desoxy-ribosid; jedoch kann durch erneuten Lauf in der gleichen Richtung die Trennung von Uridin und Cytidin noch erreicht werden (vgl. auch Abbild. 3)<sup>19)</sup>. Als Vergleichssubstanzen ließ man aus natürlichem Material isolierte Handelsprodukte<sup>15, 17)</sup> sowie die Purine Adenin und Guanin<sup>20)</sup> mitlaufen. Aufgetragen wurden jeweils Mengen zwischen 50 und 300  $\gamma$  Substanz, entspr. 0.02 bis 0.1 ccm. Die Flecke wurden mit Hilfe der Purinlampe<sup>21)</sup> auf dem Chromatogramm fest-

<sup>16)</sup> 2'-Desoxy-guanosin aus natürlichem Material lag unter den gleichen Trockenbedingungen ebenfalls als Monohydrat vor, wie die Elementaranalyse zeigte.

<sup>17)</sup> Wie Fußnote<sup>14)</sup>, jedoch Charge No. 350172.

<sup>18)</sup> H. VENNER und W. HERB, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **308**, 30 [1957].

<sup>19)</sup> Über diese Methodik soll ausführlich an anderer Stelle berichtet werden; vgl. auch Zitat 10 bei A. WACKER, S. KIRSCHFELD und L. TRÄGER, Z. Naturforsch. **14b**, 145 [1959].

<sup>20)</sup> Spektroskopisch rein; hergestellt in unserem Institut von Herrn Dr. Weiss.

<sup>21)</sup> Fa. K. Marggraf, Berlin-Charlottenburg.

gelegt. Ein Fleck wurde jeweils ausgeschnitten, mit 5 ccm Wasser extrahiert und die Extinktion im UV vermessen, während der Parallelfleck auf dem Papier auf 2-Desoxy-Zucker geprüft wurde<sup>9)</sup>. Die 2-Desoxy-Zucker markierten sich dann als grauer Fleck, der sich zentrisch innerhalb des ursprünglichen Nucleosid-Fleckes befand.

Tab. 2. UV-Spektren der synthetisierten 2-Desoxy-Nucleoside nach Papierchromatographie

	$E_{280}$ $E_{260}$	$E_{250}$ $E_{260}$	$\lambda_{\max}$ (m $\mu$ )	$\lambda_{\min}$ (m $\mu$ )
2'-Desoxy-adenosin	0.19	0.79	259	226
2'-Desoxy-guanosin	0.74	1.12	250	229

Die Messung der UV-Absorption wurde mit Hilfe eines Universal-Spektrophotometers (VEB Carl Zeiss, Jena) sowie zum Teil mit einem Uvispek-308 (Hilger & Watts, Ltd., London) durchgeführt. Es wurde meist mit Normalküvetten von 0.5 cm Schichtdicke bei 20° gemessen.

Die optische Drehung wurde mit einem Polarimeter nach Lippich der Fa. Schmidt & Hänsch, Berlin-Steglitz, im 1-dm-Rohr (temperierbar), soweit nicht anders vermerkt, vermessen. Die Schmelzpunkte wurden auf dem Heitzschmikroskop nach BOETIUS ermittelt.

MARIANNE BAUDLER, ROBERT KLEMENT und EBERHARD ROTHER

## Molekülspektroskopische Untersuchungen an $P_4O_4Cl_{10}$

Aus dem Chemischen Institut der Universität Köln, Anorganische Abteilung,  
und dem Institut für Anorganische Chemie der Universität München

(Eingegangen am 4. August 1959)

Es werden die IR- und Raman-Spektren von  $P_2O_3Cl_4$  und von  $P_4O_4Cl_{10}$  diskutiert. Für  $P_4O_4Cl_{10}$  wird eine Konstitution mit einer symmetrisch gelegenen direkten P—P-Bindung von normaler Bindefestigkeit gefolgert. Sämtliche Phosphoratome im  $P_4O_4Cl_{10}$  sind fünfbändig, und zwei von ihnen haben fünf Liganden. — Das IR- und Raman-Spektrum des bei der Veresterung von  $P_4O_4Cl_{10}$  mit Na-Phenolat entstehenden „Halbesters“  $P_2O_2(OC_6H_5)_2$  wird ebenfalls gedeutet.

Bei der Reaktion von Phosphortrichlorid mit Stickstoffdioxid nach A. GEUTHER und A. MICHAELIS<sup>1)</sup> zur Gewinnung von Pyrophosphorylchlorid<sup>2)</sup>  $P_2O_3Cl_4$  bildet sich neben anderen Nebenprodukten die Verbindung  $P_4O_4Cl_{10}$ <sup>3)</sup>. Die eingehende Untersuchung ihres chemischen Verhaltens<sup>4)</sup> hat in letzter Zeit mit großer Wahr-

<sup>1)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. **4**, 766 [1871].

<sup>2)</sup> H. GRUNZE, Z. anorg. allg. Chem. **298**, 152 [1958], nennt diese Verbindung „Dichlorphosphorsäureanhydrid“. Da sie mit Wasser zu Dichlorphosphorsäure reagiert, hat dieser Name eine gewisse Berechtigung. Sie läßt sich aber mit Alkalialkylat bzw. -arylat ohne weiteres zu Estern der Pyrophosphorsäure umsetzen, und deshalb kann sie auch „Pyrophosphorylchlorid“ genannt werden.

<sup>3)</sup> R. KLEMENT, O. KOCH und K. H. WOLF, Naturwissenschaften **41**, 139 [1954]; R. KLEMENT und K. H. WOLF, Z. anorg. allg. Chem. **282**, 149 [1955].

<sup>4)</sup> E. ROTHER, Dissertat. Univ. München 1959.