

Arthur Myles \*) und Wolfgang Pfeiderer

Nucleoside, VI<sup>1)</sup>

## Synthese von 2'-O-, 3'-O- und 5'-O-Benzyl-adenosin

Aus dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

(Eingegangen am 5. Juni 1972)

Die Synthesen der drei Monobenzyläther des Adenosins **7**, **8** und **11** werden beschrieben. Es wird gezeigt, daß sich das *N*<sup>6</sup>-Trityl-5'-*O*-trityl-adenosin (**1**) mit Benzylbromid/KOH in Dioxan/Acetonitril/Wasser bei Raumtemp. in 80proz. Ausbeute zu einem Gemisch des 2'-*O*- (**9**) und 3'-*O*-Benzyl-Derivates (**10**) monobenzylisieren läßt. UV-Spektren wurden aufgenommen und p*K*-Werte bestimmt.

Nucleosides, VI<sup>1)</sup>

### Synthesis of 2'-O-, 3'-O- and 5'-O-Benzyladenosine

The syntheses of the three monobenzyl ethers of adenosine **7**, **8** and **11** are described. It has been found, that *N*<sup>6</sup>-trityl-5'-*O*-trityl-adenosine (**1**) reacts selectively with benzylbromide/KOH in dioxane/acetonitrile/water at room temperature in 80% yield to a mixture of the 2'-*O*- (**9**) and 3'-*O*-monobenzyl (**10**) derivatives. U.v. spectra and p*K* values have been determined.

Die Verwendung der Benzylschutzgruppe zur hydrolysestabilen Blockierung der Zucker-OH-Gruppen in Nucleosiden und Nucleotiden hat bislang wenig Interesse gefunden. Die Gründe hierfür müssen wohl in der nicht ganz einfachen Zugänglichkeit der *O*'-Benzyläther sowie der Unsicherheit bei ihrer hydrogenolytischen Abspaltung und der damit eventuell verbundenen Nebenreaktionen gesucht werden. Um derartige *O*'-Benzyl-nucleosid-Derivate auf ihre allgemeine Verwendbarkeit bei Nucleotid- und Oligonucleotid-Synthesen prüfen zu können, haben wir die am Adenosin<sup>2)</sup> begonnenen Benzylierungsreaktionen weiter ausgebaut und verschiedene neue *O*'-Benzyl-adenosine dargestellt.

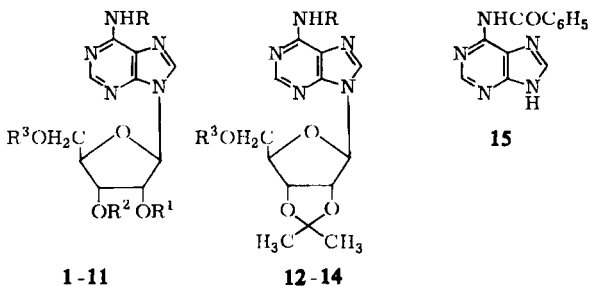
Wir hatten gezeigt, daß sich das *N*<sup>6</sup>-Trityl-5'-*O*-trityl-adenosin (**1**)<sup>2)</sup> mit Benzylchlorid in kochendem Benzol/Dioxan-Gemisch und Natriumhydrid als Base in hoher Ausbeute an der 2'- und 3'-Stellung zu 2 dibenzylisieren läßt. In gleicher Weise kann man das *N*<sup>6</sup>-Trityl-3'.5'- (**3**) und *N*<sup>6</sup>-Trityl-2'.5'-di-*O*-trityl-adenosin (**4**) in ihre 2'- (**5**) bzw. 3'-*O*-Benzyl-Derivate (**6**) überführen. Hierbei fiel auf, daß **3** glatt zu **5** benzyliert wurde, während **4** vermutlich aus sterischen Gründen wesentlich langsamer reagierte. Verwendet man jedoch anstelle von Benzylchlorid das reaktivere Benzylbromid,

\*) Alexander von Humboldt-Stipendiat 1969—1971.

1) V. Mitteil.: W. Pfeiderer, M. Shanshal und K. Eistetter, Chem. Ber. 105, 1497 (1972).

2) H. U. Blank, D. Frahne, A. Myles und W. Pfeiderer, Liebigs Ann. Chem. 742, 34 (1970).

so findet man bei rascherer Umsetzung auch eine bessere Ausbeute an **6**. Die Abspaltung der Tritylgruppen gelang durch Kochen in 80proz. Essigsäure und die Isolierung und Reindarstellung des 2'- (**7**) und 3'-*O*-Benzyl-adenosins (**8**) durch Dünnschicht- und Ionenaustauscherchromatographie.



	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
<b>1</b>	Tr	H	H	Tr
<b>2</b>	Tr	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Tr
<b>3</b>	Tr	H	Tr	Tr
<b>4</b>	Tr	Tr	H	Tr
<b>5</b>	Tr	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Tr	Tr
<b>6</b>	Tr	Tr	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Tr
<b>7</b>	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H
<b>8</b>	H	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H
<b>9</b>	Tr	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	Tr
<b>10</b>	Tr	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Tr
<b>11</b>	H	H	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>12</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO	>C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
<b>13</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO	>C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>14</b>	H	>C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>

Die Strukturzuordnung von **7** und **8** basiert auf den eindeutig geklärten Konstitutionsermittlungen der beiden Ausgangsverbindungen **3** und **4**<sup>2)</sup>. Ferner stehen die NMR-Spektren in Einklang mit dem allgemein gültigen Befund<sup>3,4)</sup>, daß das Signal des anomeren Protons von 2'-*O*-substituierten Ribonucleosiden immer bei tieferem Feld als das der 3'-*O*-Isomeren erscheint. Im 2'-*O*-Benzyl-adenosin (**7**) findet man für 1'-H in DMSO eine chemische Verschiebung von  $\delta$  6.13 ppm, während für den 3'-*O*-Benzyläther **8** das Signal bei  $\delta$  6.02 ppm auftritt.

Da die Darstellung von **7** und **8** in präparativem Maßstab in erster Linie von der Zugänglichkeit der beiden Trityladenosine **3** und **4** abhängt, haben wir uns auch um eine Verbesserung der bisherigen Synthese bemüht. Als günstig erwies sich ein Verfahren, bei dem das *N*<sup>6</sup>-Trityl-5'-*O*-trityl-adenosin (**1**) unter „Benzylierungsbedingungen“ mit Tritylchlorid und NaH in Benzol/Dioxan umgesetzt wurde. Nach

<sup>3)</sup> H. P. M. Fromageot, B. E. Griffin, C. B. Reese, J. E. Sulston und D. R. Trentham, Tetrahedron [London] **22**, 705 (1965).

<sup>4)</sup> D. M. G. Martin, C. B. Reese und G. F. Stephenson, Biochemistry **7**, 1406 (1968).

Auftrennung des Reaktionsgemisches konnten die Ausbeuten an **3** und **4** hierdurch von 5.6 bzw. 11.5%<sup>2)</sup> auf 25 bzw. 37% gesteigert werden. Trotz dieser Verbesserung erweist sich die Darstellung speziell des für weitere Synthesen interessanten 2'-*O*-Benzyl-adenosins (**7**) als recht umständlich und aufwendig, so daß wir auch eine selektive Monobenzilylierung am *cis*-Diolsystem von **1** als weitere vereinfachende Möglichkeit untersuchten. Die Überlegung basierte auf der Tatsache, daß eine ganze Anzahl von Nucleosiden bevorzugt am 2'-OH reagiert. So geben das *N*<sup>6</sup>-Acetyl-5-<sup>7)</sup>, *N*<sup>6</sup>-Benzoyl-cytidin<sup>8)</sup> und Uridin<sup>9-13)</sup> bei der Tritylierung stets mehr 2'.5'-Di-*O*-trityl-Verbindung als 3'.5'-Isomeres, und entsprechende Resultate werden auch bei der Tosylierung von 5'-*O*-Acetyl-uridin<sup>14,15)</sup> gefunden. Die unterschiedliche Reaktivität der 2'- und 3'-OH-Gruppe zeigt sich auch in der ungewöhnlichen Acidität der *cis*-Diol-Gruppierung des Adenosins, welche einen  $pK_a$ -Wert von 12.35<sup>16)</sup> aufweist, während das 2'-Desoxy- und 2'-*O*-Methyl-adenosin im normalen pH-Bereich keine Säureeigenschaften erkennen lassen. *Izatt* erklärt diese Erscheinung einmal durch den induktiven Effekt der beiden Sauerstoffatome und zum andern mit der Stabilisierung des Monoanions in Form eines Fünfring-H-Chelates. Auf die Lokalisierung der Acidität in der 2'-OH-Gruppe deuten schließlich Methylierungsversuche mit Diazomethan<sup>4,17-20)</sup> am Adenosin hin, bei denen neben wenig 3'-*O*- überwiegend das 2'-*O*-Methyl-Derivat gebildet wird.

Der Versuch, die Benzilylierung von **1** mittels Benzylchlorid und NaH in Dioxan/Benzol in Richtung auf eine Monosubstitution zu modifizieren, war nur teilweise erfolgreich. Zwar konnte das 2'-*O*- (**9**) und 3'-*O*-Benzyl-*N*<sup>6</sup>-trityl-5'-*O*-trityl-adenosin (**10**) in geringer Menge nachgewiesen werden, das Hauptprodukt war aber stets das 2'.3'-Di-*O*-benzyl-Derivat **2**. An diesem Resultat änderten weder die Variationen der Base und der Reaktionsbedingungen etwas, noch führten Umsetzungen mit Benzylbromid in Gegenwart von NaOH, KOH, Ag<sub>2</sub>O oder Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in Acetonitril/Dioxan (1:1) bei Temperaturen zwischen 0 und 80° zum Ziel. Bei Verwendung von Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, LiOH, BaO oder CaO schließlich trat keine Benzilylierung ein.

Um so überraschender war dann die Feststellung, daß die Reaktion von **1** mit Benzylbromid und gepulvertem KOH in Acetonitril/Dioxan unter Zusatz von 1-2 Äquivalenten Wasser bei Raumtemp. fast ausschließlich auf der Stufe des

<sup>5)</sup> Y. Mizuno und T. Sasaki, Tetrahedron Letters [London] **1965**, 4579.

<sup>6)</sup> U. Brodbeck und J. G. Moffatt, J. org. Chemistry **35**, 3552 (1970).

<sup>7)</sup> H. U. Blank und W. Pfeiderer, Liebigs Ann. Chem. **742**, 16 (1970).

<sup>8)</sup> W. Hutzenlaub und W. Pfeiderer, unveröffentl. Resultate.

<sup>9)</sup> H. U. Blank und W. Pfeiderer, Liebigs Ann. Chem. **742**, 1 (1970).

<sup>10)</sup> N. C. Yung und J. J. Fox, J. Amer. chem. Soc. **83**, 3060 (1961).

<sup>11)</sup> J. F. Codington und J. J. Fox, Carbohydr. Res. **3**, 124 (1966).

<sup>12)</sup> A. F. Cook und J. G. Moffatt, J. Amer. chem. Soc. **89**, 2697 (1967).

<sup>13)</sup> J. Zemlicka, Collect. czechoslov. chem. Commun. **29**, 1734 (1964).

<sup>14)</sup> D. M. Brown, A. Todd und S. Varadarajan, J. chem. Soc. [London] **1956**, 2388.

<sup>15)</sup> D. M. Brown, D. B. Parihar, A. Todd und S. Varadarajan, J. chem. Soc. [London] **1958**, 3028.

<sup>16)</sup> R. M. Izatt, D. L. Hansen, J. H. Rytling und J. J. Christensen, J. Amer. chem. Soc. **87**, 2760 (1965).

<sup>17)</sup> A. D. Broom und R. K. Robins, J. Amer. chem. Soc. **87**, 1145 (1965).

<sup>18)</sup> F. Rottman und K. Heinlein, Biochemistry **7**, 2634 (1968).

<sup>19)</sup> J. B. Gin und C. A. Dekker, Biochemistry **7**, 1413 (1968).

<sup>20)</sup> T. A. Khwaja und R. K. Robins, J. Amer. chem. Soc. **88**, 3640 (1966).

Monobenzyl-Gemisches **9** + **10** stehen blieb. Ähnliche Befunde wurden bei der Monobenzoylierung<sup>21)</sup> von Adenosin in 2'- bzw. 3'-Stellung und der Tosylierung des Dinatriumsalzes der 5'-Adenylsäure<sup>22)</sup> zum 2'-*O*-Tosyl-Derivat in wäßrigen organischen Lösungsmitteln beobachtet. Bei der Untersuchung des Reaktionsgemisches stellte sich heraus, daß unglücklicherweise die Isomeren **9** und **10** chromatographisch nicht zu trennen sind und sich somit keine verbindlichen Aussagen über die quantitativen Mengenverhältnisse machen lassen. Erst nach Abspaltung der Tritylreste wird eine Trennung von **7** und **8** möglich, welche analytisch auf Cellulose-Dünnschichtplatten mit 3proz. Ammoniumchloridlösung und präparativ an Dowex-1 Ionenaustauscher (OH-Form)<sup>19,23)</sup> mit 50proz. wäßrigem Methanol vorgenommen wurde. Durch die Isolierung von 57% **7** und 15% **8**, bezogen auf **9** + **10**, ist trotz der unvermeidlichen Verluste beim Separationsprozeß gezeigt, daß die 2'-*O*-Substitution bevorzugt ist. Eine quantitative Auftrennung nach Mono- und Di-Substitutionsprodukten lehrte, daß neben 80% **9** + **10** nur etwa 2% **2** gebildet werden.

Tab. Physikalische Daten von Adenosin-Derivaten

-adenosin	pK <sub>a</sub> -Werte <sup>a)</sup> in Wasser 20° Streuung	UV-Absorptions- spektren $\lambda_{\max}$ (nm)	pH-Wert	Molekül- art *)
Adenosin	3.06 ± 0.1	256 4.17 258 4.18	1.0 6.0	+ 0
2'- <i>O</i> -Benzyl- ( <b>7</b> )	3.21 ± 0.15	257 4.10 259 4.11	1.0 6.0	+ 0
3'- <i>O</i> -Benzyl- ( <b>8</b> )	3.18 ± 0.15	256 4.17 258 4.19	1.0 6.0	+ 0
5'- <i>O</i> -Benzyl- ( <b>11</b> )	2.89 ± 0.2	256 4.15 258 4.15	1.0 6.0	+ 0
N <sup>6</sup> -Benzoyl-2'.3'-di- <i>O</i> - isopropyliden- ( <b>12</b> )	1.74 ± 0.12	292 4.43 281 4.32	-1.0 5.0	+ 0
N <sup>6</sup> -Benzoyl-5'- <i>O</i> -benzyl- 2'.3'-di- <i>O</i> -isopropyliden- ( <b>13</b> )	2.13 ± 0.15	290 4.32 282 4.27	0.0 5.0	+ 0
2'.3'-Di- <i>O</i> -isopropyliden-	3.52 ± 0.05	256 4.17 258 4.18	1.0 6.0	+ 0
5'- <i>O</i> -Benzyl-2'.3'-di- <i>O</i> - isopropyliden- ( <b>14</b> )	3.69 ± 0.04	257 4.08 259 4.13	1.0 6.0	+ 0
2'- <i>O</i> -Benzyl-N <sup>6</sup> -trityl- 3'.5'-di- <i>O</i> -trityl- ( <b>5</b> )		273 4.36	Äthanol	0
3'- <i>O</i> -Benzyl-N <sup>6</sup> -trityl- 2'.5'-di- <i>O</i> -trityl- ( <b>6</b> )		275 4.37	Äthanol	0

\*) + = Monokation, 0 = Neutramolekül.

a) Spektrophotometrisch bestimmt nach A. Albert und E. P. Sergeant, Ionization Constants of Acids and Bases, S. 69, Methuen & Co. Ltd., London 1962.

Abschließend haben wir uns auch noch um die Synthese des 5'-*O*-Benzyl-adenosins (**11**) bemüht. Sie wurde eingeleitet durch eine NaH-katalysierte Benzylierung des N<sup>6</sup>-Benzoyl-2'.3'-di-*O*-isopropyliden-adenosins (**12**) zu **13** mit anschließender sukzes-

<sup>21)</sup> L. N. Nikolenko, W. N. Nesuwihatko, A. F. Usatij und M. N. Semjenowa, Tetrahedron Letters [London] **1970**, 5193.

<sup>22)</sup> M. Ikehara und S. Uesugi, Tetrahedron Letters [London] **1970**, 713.

<sup>23)</sup> C. A. Dekker, J. Amer. chem. Soc. **87**, 4027 (1965).

siver Abspaltung zunächst der Benzoylgruppe zum 5'-*O*-Benzyl-2'.3'-di-*O*-isopropyliden-adenosin (**14**) und dann Hydrolyse der Ketalfunktion in Ameisensäure zu **11**. Beim Versuch, beide Schutzgruppen gleichzeitig mit Ameisensäure abzuspalten, trat Sprengung der glykosidischen Bindung ein, es konnte lediglich *N*<sup>6</sup>-Benzoyl-adenin isoliert werden.

Zur weiteren Charakterisierung der neu synthetisierten Verbindungen haben wir ihre  $pK_a$ -Werte auf spektrophotometrischem Wege bestimmt und die UV-Spektren der Monokationen und Neutralkomplexe aufgenommen (Tab.).

Die  $pK$ -Werte und UV-Spektren sämtlicher untersuchter Verbindungen verhalten sich normal, so daß lediglich auf den schwachen basensteigernden Effekt von 0.5–0.8  $pK$ -Einheiten bei Einführung der Isopropylidenfunktion in 2'.3'-Stellung als Besonderheit hinzuweisen ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Ferner gilt unser Dank den chem.-techn. Assistentinnen Fräulein *S. Baier* für geschickte experimentelle Hilfe und Frau *M. Bischler* für die Bestimmung der physikalischen Daten.

## Beschreibung der Versuche

Die Aufnahme der UV-Absorptionsspektren sowie die spektrophotometrische Bestimmung der  $pK$ -Werte erfolgten mit einem Cary-Recording-Spektrophotometer, Modell 15, der Applied Physics Corp. Die chromatographischen Analysen der Reaktionsmischungen und -produkte wurden auf Polygram SIL G/UV<sub>254</sub>- oder CEL 300 UV<sub>254</sub>-Fertigfolien von Machery Nagel & Co. durchgeführt. Für die präparative Schichtchromatographie (PC) wurde Merck Silicagel PF<sub>254</sub> und für die Säulenchromatographie Merck Silicagel (0.05–0.2 mm) verwendet. Die Substanzen wurden vor der Analyse in einer Vakuumtrockenpistole über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

*N*<sup>6</sup>-Trityl-3'.5'- (**3**) und *N*<sup>6</sup>-Trityl-2'.5'-di-*O*-trityl-adenosin (**4**): 1.0 g *N*<sup>6</sup>-Trityl-5'-*O*-trityl-adenosin (**1**)<sup>24</sup> wird in 24 ccm Benzol/Dioxan (1 : 1) gelöst, mit 0.25 g in Benzol gewaschenem NaH und 0.4 g Tritylchlorid versetzt und dann 3.75 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Man läßt abkühlen, filtriert vom Ungelösten ab und neutralisiert mit wenigen Tropfen Eisessig. Nach Einengen wird das zurückbleibende Öl in wenig Essigester gelöst und auf 6 präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) in Streifen aufgetragen. Man entwickelt mit Benzol/Essigester (10 : 1), eluiert die beiden Hauptzonen mit Essigester und erhält aus der Zone mit kleinerem  $R_F$ -Wert nach Einengen 0.485 g (37%) **4** vom Schmp. 155–157° (Lit.<sup>2)</sup>-Schmp. 153–157° und aus der weiterlaufenden Bande 0.32 g (25%) **3** vom Schmp. 147–149° (Lit.<sup>2)</sup>-Schmp. 155–158°. Beide Produkte sind chromatographisch und spektrophotometrisch mit authent. Materialien identisch.

Eine präparative Trennung von **3** und **4** gelingt auf einer Kieselgelsäule (53 × 4.5 cm), bei der das Kieselgel vor dem Packen der Kolonne in CCl<sub>4</sub>/Essigester (15 : 1) durch Zugabe von 10% Wasser und mehrstdg. gutes Durchmischen am Rotationsverdampfer desaktiviert wurde<sup>25</sup>. Man kann 6–7 g Rohprodukt auftrennen und erhält nach Entwickeln mit CCl<sub>4</sub>/Essigester (15 : 1) aus den beiden Hauptzonen nach Einengen 20% **3** und 35% **4**.

2'-*O*-Benzyl-*N*<sup>6</sup>-trityl-3'.5'-di-*O*-trityl-adenosin (**5**): 0.5 g **3** in 20 ccm siedendem Benzol/Dioxan (1 : 1) werden mit 0.1 g NaH und 0.2 ccm Benzylchlorid versetzt und 50 Min. unter

<sup>24</sup> C. D. Anderson, L. Goodman und B. R. Baker, J. Amer. chem. Soc. **81**, 3967 (1959).

<sup>25</sup> B. Loev und M. M. Goodman, Chem. and Ind. **1967**, 2026.

Rückfluß gekocht. Das Ende der Reaktion wird dabei dünnschichtchromatographisch festgestellt. Das überschüssige NaH wird entfernt, indem man durch eine Kieselgurschicht absaugt. Das Filtrat wird mit Methanol verdünnt und dann mit Dowex-50 (H<sup>+</sup>-Form) neutralisiert. Nach Einengen wird durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel mit Benzol/Essigester (10:1) getrennt. Die Hauptzone wird mit Essigester eluiert, das Eluat am Rotationsverdampfer eingengt, der Rückstand in wenig Methanol aufgenommen und dann durch langsame Zugabe von Wasser eine amorphe Substanz zur Abscheidung gebracht. Ausb. 0.44 g (80 %) farbloses amorphes Pulver vom Schmp. 133–137°.

C<sub>74</sub>H<sub>61</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (1084.3) Ber. C 81.94 H 5.67 N 6.46 Gef. C 81.80 H 5.97 N 6.31

*3'-O-Benzyl-N<sup>6</sup>-trityl-2'.5'-di-O-trityl-adenosin (6)*: 0.5 g **4** werden mit 0.2 ccm Benzylbromid wie vorstehend benzyliert und das Reaktionsgemisch entsprechend aufgearbeitet. Ausb. 0.44 g (80 %) farbloses amorphes Pulver vom Schmp. 134–141°.

C<sub>74</sub>H<sub>61</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (1084.3) Ber. C 81.94 H 5.67 N 6.46 Gef. C 81.93 H 5.69 N 6.47

*2'-O-Benzyl-adenosin (7)*: 0.4 g **5** werden in 20 ccm Eisessig durch leichtes Erwärmen gelöst. Nach Zugabe von 5 ccm Wasser kocht man 20 Min. unter Rückfluß und engt dann am Rotationsverdampfer mehrfach unter Wasserzugabe zu einem Öl ein. Es wird in Methanol/Chloroform (1:1) gelöst, auf zwei präparative Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) aufgetragen und mit Essigester/Äthanol (3:1) entwickelt. Die Hauptzone wird mit heißem absol. Äthanol eluiert, und nach Einengen auf ein kleineres Volumen scheiden sich 0.066 g (50 %) farblose Kristalle vom Schmp. 132–135° ab. Zur weiteren Reinigung kann das Produkt über eine Dowex 1 X 8 (OH-Form)-Ionenaustauschersäule (1 × 18 cm) mit 30proz. wäbr. Methanol chromatographiert werden. **7** wird als scharfe Bande in den Fraktionen 3–17 (je 300 Tropfen) gefunden und zeigt nach Einengen und Umkristallisation aus Äthanol Schmp. 139–142°.

C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (357.4) Ber. C 57.14 H 5.36 N 19.60 Gef. C 56.90 H 5.29 N 19.36

*3'-O-Benzyl-adenosin (8)*: 0.4 g **6** werden wie vorstehend verseift. Nach schichtchromatographischer Auftrennung erhält man 0.054 g (40 %) farblose Kristalle, welche nach weiterer Reinigung durch Ionenaustauscherchromatographie (Fraktionen 37–90) bei 196–198° schmelzen.

C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (357.4) Ber. C 57.14 H 5.36 N 19.60 Gef. C 57.36 H 5.29 N 19.54

*2'-O- und 3'-O-Benzyl-N<sup>6</sup>-trityl-5'-O-trityl-adenosin (9 + 10) und Spaltung zu 2'-O- (7) und 3'-O-Benzyl-adenosin (8)*: 1.87 g (**1**<sup>24</sup>) in 150 ccm Dioxan/Acetonitril (1:1) werden mit 0.5 ccm Benzylbromid, 2 ccm Wasser und 0.4 g gepulvertem KOH versetzt. Man rührt bei Raumtemp. ca. 24 Std., bis sich im Dünnschichtchromatogramm [Kieselgel, Benzol/Essigester (5:1)] kein Ausgangsprodukt mehr zeigt. Nach Neutralisation mit Essigsäure wird mit Chloroform/Wasser extrahiert. Die Chloroformphase wird abgetrennt, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und nach Konzentrieren das Reaktionsgemisch auf präparative Kieselgelplatten aufgetragen. Man entwickelt mit Benzol/Essigester (5:1), schneidet die Hauptbanden aus und eluiert mit Chloroform/Äthanol (2:1). Nach Einengen im Rotationsverdampfer wird der ölige Rückstand in wenig Chloroform gelöst und dann durch Zugabe von Petroläther (50–70°) 1.67 g (80 %) des Isomerengemisches **9 + 10** in Form eines amorphen Pulvers gefällt.

Das Produkt wird in 80proz. Essigsäure 20 Min. unter Rückfluß gekocht, zur Trockne eingengt und zur Entfernung der Essigsäure mehrfach mit Wasser im Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird in Benzol/Essigester (10:1) aufgeschlämmt und auf eine Kieselgelsäule (5 × 4 cm) aufgetragen. Durch Elution mit 100 ccm Benzol/Essigester (10:1) trennt man das Tritanol ab und holt dann **7 + 8** mit Äthanol von der Säule. Nach Einengen werden die beiden Isomeren durch Ionenaustauscherchromatographie auf einer Dowex 1 X 4

(OH-Form)-Säule (100×3 cm) mit 50proz. wäbr. Methanol wie oben beschrieben voneinander getrennt. Man gewinnt nach Umkristallisation aus Äthanol 0.405 g (57%) **7** und 0.106 g (15%) **8**.

*N*<sup>6</sup>-Benzoyl-5'-*O*-benzyl-2'.3'-di-*O*-isopropyliden-adenosin (**13**): 0.82 g *N*<sup>6</sup>-Benzoyl-2'.3'-di-*O*-isopropyliden-adenosin (**12**)<sup>26)</sup> werden in 40 ccm Benzol/Dioxan (1:1) mit 0.2 g NaH und 0.5 ccm Benzylbromid 22 Std. unter Rückfluß erhitzt. Das noch warme Reaktionsgemisch wird durch Kieselgur filtriert, das Filtrat mit Methanol verdünnt und dann mit Dowex-50 (H<sup>+</sup>-Form) neutralisiert. Man engt ein, löst den Rückstand in wenig Chloroform und trennt durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel mit Essigester als Laufmittel. Elution mit Chloroform/Äthanol (2:1) und Einengen ergibt 1.0 g (67%) eines analytisch reinen festen Schaumes.

C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (501.5) Ber. C 64.66 H 5.43 N 13.96 Gef. C 64.52 H 5.41 N 13.76

5'-*O*-Benzyl-2'.3'-di-*O*-isopropyliden-adenosin (**14**): 0.5 g **13** werden in 30 ccm Methanol welchem 0.02 g Natriummethylat zugesetzt wurden, 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Man neutralisiert mit Ameisensäure und extrahiert mit Chloroform/Wasser. Die organische Phase wird mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, auf ein kleines Vol. eingengt und dann auf eine präparative Kieselgelplatte aufgetragen. Nach Chromatographie mit Essigester wird die Hauptzone mit Chloroform/Äthanol (2:1) eluiert und erneut eingengt. Da die Substanz nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde eine Chloroform/Hexan-Lösung am Rotationsverdampfer scharf eingengt und so 0.27 g (68%) **14** in Form eines festen amorphen Pulvers erhalten.

C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (397.4) Ber. C 60.44 H 5.83 N 17.62 Gef. C 60.25 H 5.79 N 17.45

5'-*O*-Benzyl-adenosin (**11**): 0.15 g 5'-*O*-Benzyl-2'.3'-di-*O*-isopropyliden-adenosin (**14**) werden in 10 ccm Ameisensäure 22 Std. bei Raumtemp. aufbewahrt und dann zur Entfernung der Ameisensäure mehrmals mit Äthanol/Wasser am Rotationsverdampfer eingengt. Man löst dann in wenig Methanol, trägt auf zwei präparative Kieselgelplatten (40×20×0.2 cm) auf und entwickelt mit Äthanol/Essigester (1:3). Die Hauptzone wird mit Äthanol und Äthanol/Methanol (1:1) eluiert und nach Einengen der Rückstand in 50proz. wäbr. Methanol durch Ionenaustauscherchromatographie an Dowex I X 4 (OH-Form, Säule 30×1 cm) weiter gereinigt. Man sammelt Fraktionen von 500 Tropfen und findet dann **14** in den Gläsern 20–40. Nach erneutem Einengen und Umkristallisieren aus Äthanol erhält man 0.032 g (27%) farblose Kristalle vom Schmp. 179°.

C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (375.4) Ber. C 54.39 H 5.64 N 18.66 Gef. C 54.60 H 5.58 N 18.44

<sup>26)</sup> S. Chladek und J. Smrt, Collect. czechoslov. chem. Commun. **29**, 214 (1964).

[185/72]