

Nucleosidtransformationen, V¹⁾Umwandlung von Guanosin in 2'-Desoxy-, 3'-Desoxy-, 2',3'-Anhydro- sowie *xylo*-Guanosin

Rudolf Mengel* und Wolfgang Muhs*

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz,
Postfach 7733, D-7750 Konstanz

Eingegangen am 20. April 1978

3'- und 2'-Desoxyguanosin (12 bzw. 13) werden, ausgehend von Guanosin (1), durch Umsetzung mit Orthoessigsäure-trimethylester, Pivaloylchlorid/Pyridin, Tributylzinnhydrid und Natrium-methylat über die Zwischenstufen 2, 3a/4a dargestellt. 2-N,5'-O-Dipivaloyl-2',3'-anhydroguanosin (14) entsteht bei Behandlung des 3'-Iodguanosin-Derivats 10 mit Phthalimidkalium. In wäßriger Lösung zeigen die 2',3'-Anhydroguanosin-Derivate 14–16 N-3 → C-3'-Cyclonucleosid-Bildung. Das *xylo*-Guanosin-Derivat 22 entsteht aus 14 beim Rühren mit einer Bortrifluoridetherat-Lösung.

Nucleoside Transformations, V¹⁾Transformation of Guanosine into 2'-Deoxy, 3'-Deoxy-, 2',3'-Anhydro- and *xylo*-Guanosine

3'- and 2'-deoxyguanosine (12 and 13, respectively) are obtained from guanosine (1) upon reaction with trimethyl orthoacetate, pivaloyl chloride/pyridine, tributyltin hydride and sodium methylate through the intermediates 2, 3a/4a. 2-N,5'-O-Dipivaloyl-2',3'-anhydroguanosine (14) is formed on treatment of the 3'-iodoguanosine derivative 10 with potassium phthalimide. The 2',3'-anhydro derivatives 14–16 form N-3 → C-3'-cyclonucleosides in aqueous solution. Stirring of 14 with a boron trifluoride etherate solution yields *xylo*-guanosine derivative 22.

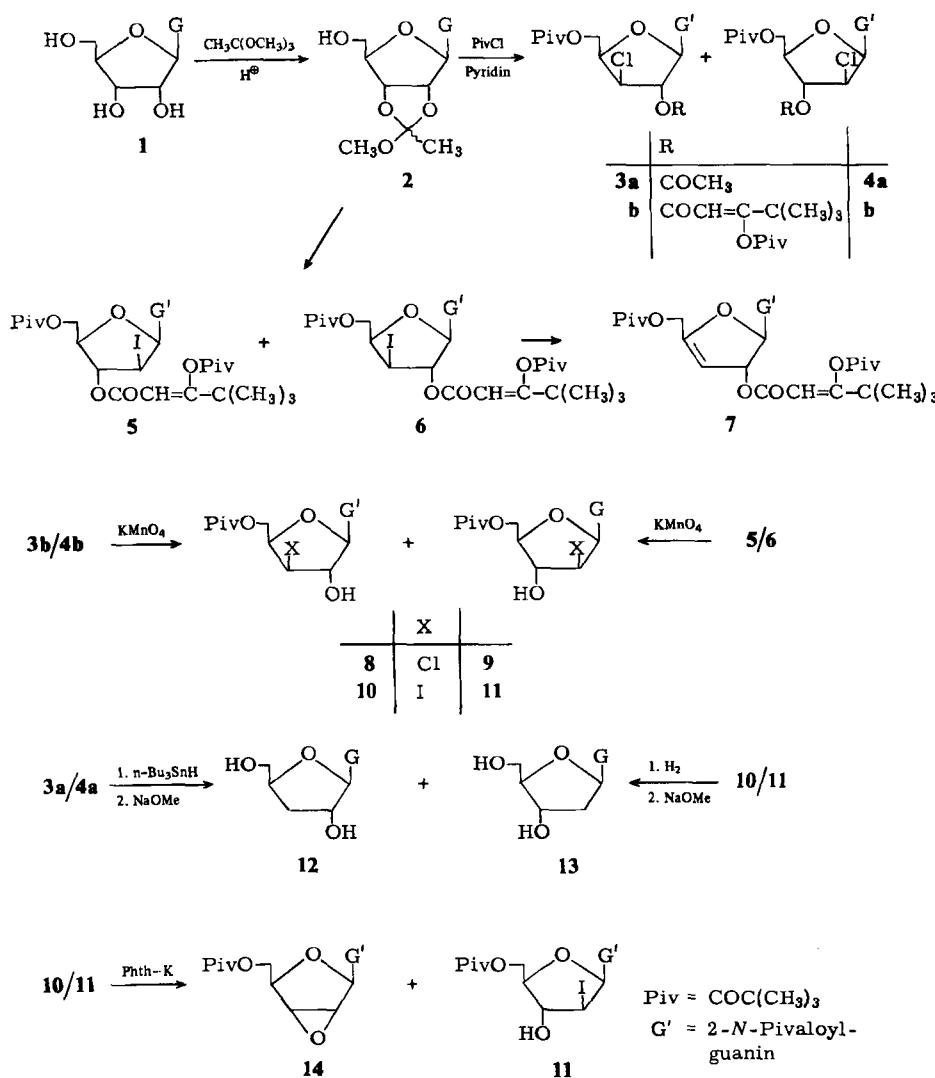
Für zahlreiche Reaktionen des zellulären Metabolismus sind Nucleotide des Guanins Substrate oder Aktivatoren, wie z. B. für DNA-, RNA- oder Proteinbiosynthese²⁾. Einige modifizierte Guanosin-Derivate zeigen Antitumor- und/oder antivirale Wirksamkeit, z. B. α - und β -2'-Desoxythioguanosin³⁾, Arabinoguanosin⁴⁾ sowie das kürzlich in der Natur aufgefondene 2'-Aminoguanosin⁵⁾. Das übliche Syntheseversfahren der Zucker-Base-Verknüpfung führt bei Guanin zu positions-isomeren α , β -Gemischen, deren Auf trennung zum Teil Schwierigkeiten bereitet. Um modifizierte Guanosin-nucleoside direkter darzustellen, haben wir untersucht, ob sich – wie beim Adenosin erstmals gefunden⁶⁾ – in den Ribofuranose-Teil von Guanosin ein sekundäres Halogenatom einführen lässt^{7a)}. Ähnliche Umwandlungen haben Jain und Moffatt^{7b)} untersucht.

Ausgehend von 1 lässt sich 2',3'-O-(1-Methoxyethyliden)guanosin (2) analog zu der für 2',3'-O-(Ethoxymethylen)guanosin⁸⁾ beschriebenen Methode zu 90% als Diastereomeren-Paar im *exo/endo*-Verhältnis 1:2 (¹H-NMR) erhalten⁹⁾.

2 reagiert mit Pivaloylchlorid/Pyridin zu einem Gemisch, das vorwiegend 9-(2-O-Acetyl-3-chlor-3-desoxy-5-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (3a) enthält.

*) Teil der Dissertation W. Muhs, Univ. Konstanz 1975.

Dem mittels Säulenchromatographie abtrennbaren Beiproduct lässt sich wie im Falle des Adenosins⁶⁾ aufgrund der ¹H-NMR- und Massenspektren (s. Tab. 1, 2) die den komplexen 2'-O-(4,4-Dimethyl-3-pivaloyloxy-2-pentenoyl)[DMPP]-Rest enthaltende Konstitution **3b** zuordnen. In den ¹H-NMR-Spektren von **3a** und **b** sind Signale, die auf die isomeren 2'-Chlor- β -D-*arabino*-Verbindungen **4a** bzw. **4b** zurückgehen, noch erkennbar. Säulen-chromatographisch gelingt es jedoch nicht, die Isomeren **3** und **4** zu trennen. Das nach Reduktion und Abspaltung der Schutzgruppen erhaltene 2'-/3'-Desoxyguanosin-Gemisch hingegen lässt sich auftrennen, und ein 2':3'-Verhältnis von ungefähr 1:9 wird ermittelt (siehe unten).



Tab. 1. ^1H -NMR-Daten (100 MHz) der substituierten Guanosin-nucleoside (δ -Werte in ppm)

	1'-H	2'-H	3'-H	4'-H	5'-H _{A,B}	8-H	5'-O-Pivaloyl und/oder bzW.	1-NH	2-N-Pivaloyl	Weitere Signale
3a ^{a)}	5.94 (d) ^{b)}	5.7 (m)	4.3–4.7 (m)	4.3–4.7 (m)	4.3–4.7 (m)	7.98	1.34 1.20	8.4	OCOCH ₃ 2.18	
3b ^{a)}	5.92 (d) ^{c)}	5.53 (m)	4.3–4.7 (m)	4.3–4.7 (m)	4.3–4.7 (m)	7.99	1.33 1.22	8.4	C=C-tBu 1.16	
6 ^{a)}	5.98 (d) ^{d)}	5.74 (br)		3.6–4.6 (m)	3.6–4.6 (m)	8.0	1.22 1.32	8.38	C=C-tBu 1.16	
7	6.23 (d) ^{e)}	5.77 (br)	5.18 (br)	—	4.91 („d“) ^{f)} 4.60	7.75	1.36 1.25	8.6	C=C-tBu 1.20	
8	5.86 (d) ^{g)}	4.95 (br)	4.7 (m)	4.5 (zm)	4.5 (zm)	7.80	1.35 1.17	9.4	C=C 5.72 2-NH 12.1 2'-OH 6.6 (d) ^{h)}	
9	6.36 (d) ⁱ⁾	3.8–4.8 (m)	3.8–4.8 (m)	3.8–4.8 (m)	3.8–4.8 (m)	8.08	1.24			
10	5.75 (d) ^{j)}	4.88 („q“) ^{k)}	4.52 (t)	4.30 (zm)	4.3 (zm)	8.15	1.28 1.16	10.98 2-NH 12.12	2'-OH 6.38 (d) ^{l)}	
11	6.2 (d) ^{m)}	4.5–4.9 m	4.5–4.9 m	4 (m)	4.42 (zm)	8.10	1.25 1.16	11.2 2-NH 12.0	3'-OH 6.2 (br)	

Die Spektren von 3a/b, 6, 7 + 8 wurden in CDCl_3 , die von 9, 10 und 11 in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ (TMS interner Standard) aufgenommen.

m = Multiplett, zm = bei... zentriertes Multiplett, q = Quartett, d = Dublett, br = breit, ist nichts vermerkt, treten die Signale als Singulets auf.

a) = Lediglich die Signale des überwiegenden Isomeren waren in den Gemischen 3a/4a, 3b/4b oder 5/6 eindeutig zu erkennen. — b) = $J_{1',2'} = 3\text{ Hz}$.

c) = $J_{1',2'} = 2.5\text{ Hz}$, $-^6J_{1',2'} = 3\text{ Hz}$, $-^9J_{1',2'} = 2\text{ Hz}$. — d) = $J_{1',2'} = 2\text{ Hz}$, $-^9J_{1',2'} = 5\text{ Hz}$, $-^9J_{2',-6\text{OH}} = 2\text{ Hz}$. — e) = $J_{1',2'} = 6\text{ Hz}$, $-^9J_{2',3'} = 5\text{ Hz}$, $-^9J_{2',-6\text{OH}} = 5\text{ Hz}$; — f) = $J_{1',2'} = 5.5\text{ Hz}$.

Tab. 2. Charakteristische Fragmente aus den Massenspektren der substituierten Guanosin-nucleoside^a. 70 eV, 150–230 °C, Direkteinlaß, m/e -Werte, in Klammern relative Intensitäten in %

Verbindung	M	M – X ^b)		M – 57		M – 84		M – 85		M – (84 + 57)		M – (HX + 57)		Z – 84		Z – 84		M – (84 + 57) + BPiv ^c + H)		M – (85 + 57)		BPiv + H		BPiv + H		
		(M – X ^b)	(M – 57)	(M – 84)	(M – 85)	(84 + 57)	(84 + 57)	(HX + 57)	(Z ^d)	(Z – 84)	(84 + 57)	(Z – 84)	(84 + 57)	(Z – 84)	(84 + 57)	(Z – 84)	(84 + 57)	(Z – 84)	(85 + 57)	(BPiv + H)	(m/e 235)	(m/e 235)	(m/e 235)	(m/e 235)		
3a, 4a	511 ^e (19)	476 (1)	454 (1.2)	427 (0.5)	426 (0.5)	—	—	—	—	277 (64)	193 (8)	136 (3)	135 (6.2)	135 (1)	136 (3)	135 (20)	135 (27)	135 (8)	135 (45)	135 (8)	135 (304)	135 (303)	135 (100)	135 (100)	135 (85)	
3b, 4b ^e	679 (9)	—	622 (11.5)	595 (1.5)	594 (1.5)	538 (35)	502 (4.5)	502 (35)	445 (20)	361 (35)	361 (20)	304 (20)	304 (27)	304 (27)	304 (27)	304 (27)	304 (27)	304 (8)	304 (45)	304 (8)	304 (303)	304 (303)	304 (100)	304 (100)	304 (15)	
5, 6 ^e	771 (2.2)	644 (0.3)	714 (6.3)	687 (0.5)	686 (0.3)	630 (10)	502 (20)	502 (10)	537 (20)	453 (27)	453 (18)	396 (27)	396 (18)	396 (18)	396 (27)	396 (18)	396 (18)	396 (39.5)	396 (6.2)	396 (39.5)	396 (39.5)	396 (11.5)	396 (11.5)	396 (100)	396 (100)	396 (85)

^a) Die Konstitutionen der Ionen sind analog denen der entsprechenden Inosin- und Adenosin-Verbindungen^{6,10}. — ^b) X = ³⁵Cl oder ¹²⁷I. — ^c) Diese Fragmente zeigen zusätzlich einen um 2 Masseneinheiten höheren ³⁷Cl-Isotopenpeak. — ^d) Z = Zuckerteil. — ^e) Bei diesen Verbindungen treten weitere charakteristische Ionen bei m/e = 211 und 127 auf. Sie sind auf die Enolester-Gruppe (DMPP) zurückzuführen.

Tab. 3. ¹H-NMR-Daten (100 MHz) der unsubstituierten Guanosin-nucleoside (δ-Werte in ppm)

	8-H	2-NH ₂	1'-H	2'-H	3'-H	3'-H	4'-H	5'-H _{A,B}	2'-OH	3'-OH	5'-OH
12	8.00 s	6.50 bs	5.75 d, $J_{1',2'} \approx 2$ Hz	4.50 m, $J_{2',3'} = 5$, $J_{2',3'} = 3$ Hz	2.26 dd, $J_{3',4} = 8.5$, $J_{3',3'} = 13$ Hz	1.92 dd, $J_{3',4'} = 6$ Hz	4.34 m	3.62 2q	5.59 d	—	5.00 t
16	7.98 s	6.50 bs	5.95 s	4.34 d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz	4.10 d	—	4.10 m	3.52 t	—	—	5.00 t
18	7.64 s	6.9 bs	5.95 s	4.80 s	5.10 d, $J_{3',4} \approx 3$ Hz	—	4.60 m	3.40 m	6.9 bs	—	4.9 bs
23	7.90 s	6.5 s	5.71 d, $J_{1',2'} \approx 2$ Hz	4.24 bd	4.1 m	—	4.1 m	3.7 q	5.8 d	5.55 d	4.7 t

b = breites Signal.

Im Vergleich zu Adenosin (70%)⁹⁾ und Inosin (72%)¹⁰⁾ ist die Ausbeute obiger Reaktionsstufe (34%) weitaus geringer. Wir beobachteten die Entstehung dunkel gefärbter Nebenprodukte, die wir jedoch nicht näher untersuchten. Zum einen erscheint für die Umwandlung von **2** in das vom Mechanismus her zu fordernde intermediäre Acyloxonium-Ion Siedehitze erforderlich, zum andern ist bekannt, daß die Acylierung von Guanosin bei höheren Temperaturen zu gefärbten Nebenprodukten führt¹¹⁾.

Reaktion von **2** mit Pivaloylchlorid und Pyridin in Gegenwart von überschüssigem Natriumiodid ergibt die den DMPP-Rest enthaltenden Iodverbindungen **5** und **6** als Gemisch¹²⁾. Beim Nebenprodukt, das sich chromatographisch abtrennen läßt, handelt es sich um das 3',4'-ungesättigte Derivat **7**. Besser als durch thermische HI-Abspaltung läßt sich **6** jedoch durch Reaktion mit Silberacetat in **7** überführen. Durch Behandeln der Gemische **3b/4b** bzw. **5/6** mit Kaliumpermanganat werden die Enolester-Reste (DMPP-Gruppen) in C-3' und C-2' selektiv abgespalten und die Halogenhydride **8/9, 10/11** (jeweils Gemisch) erhalten. Als günstig erweist sich, das aus **2** erhaltene Rohprodukt (**5/6/7**) ohne vorherige Säulentrennung der Kaliumpermanganat-Oxidation zu unterwerfen. Dabei entsteht aus **7** 2-N-Pivaloylguanin. Von diesem sowie von fluoreszierenden Beiprodukten läßt sich die Mischung **10/11** chromatographisch abtrennen.

3'- und 2'-Desoxyguanosin

Eine Umwandlung von Guanosin in 3'- und 2'-Desoxyguanosin wurde bereits beschrieben¹²⁾. Als wichtige Zwischenstufen fungieren die 8,3'- bzw. 8,2'-Thioanhydro-Verbindungen; die Gesamtausbeuten dieser Methode betragen weniger als 3%. Nach dem konventionellen Verfahren der Zucker-Base-Verknüpfung wurde 3'-Desoxyguanosin bisher von drei Arbeitskreisen¹³⁻¹⁵⁾ dargestellt, wobei, wie zu erwarten, auch Isomere (N-7, N-9, α , β) gebildet werden. Hervorzuheben ist, daß nach der Silyl-Methode (Basenkomponente 2-N-Acetyl-tris(trimethylsilyl)guanin) offenbar nur die *N*-9-substituierte Verbindung erhalten wird¹⁵⁾.

Unterwirft man das Gemisch **3a/4a** der reduzierenden Dechlorierung mit Tri-n-butylzinnhydrid und entfernt anschließend die Schutzgruppen, so entstehen 3'- und 2'-Desoxyguanosin (**12, 13**). Sie können über eine Dowex (OH⁻-Form)-Ionenaustauschersäule aufgetrennt werden. Die physikalischen Daten der im Verhältnis $\approx 9:1$ isolierten 3'- und 2'-Desoxyguanosine sind in Übereinstimmung mit den Literaturangaben¹²⁻¹⁴⁾. **12** und **13** lassen sich auch ausgehend von **10, 11** erhalten: katalytische Reduktion, Natriummethylat-Behandlung und Dowex-Säulentrennung ergibt ein ähnliches 3'/2'-Verhältnis.

2',3'-Anhydroguanosine

Die 2',3'-Anhydro-Verbindungen sind wertvolle Zwischenprodukte für Nucleosid-Synthesen¹⁶⁾. Zu ihrer Darstellung können Verbindungen dienen, die *trans* zum 3'- bzw. 2'-Halogenatom eine OH- oder Acyl-Gruppe in 2'-bzw. 3'-Position tragen. Am geeignetsten erweist sich **10/11**, das auf einfache Weise rein erhalten werden kann. Bei den Adenosin-Derivaten wurde gefunden, daß das 2'-Chlor-*arabino*-Derivat den Epoxid-Ring langsamer bildet als das 3'-Chlor-*xylo*-Isomere¹⁷⁾. Mit Basen ausreichender Stärke sollte es somit im Gemisch **10/11** nur bei **10** zur Epoxid-Bildung kommen. Phthalimidkalium in Dimethyl-

¹²⁾ Nach Reduktion und Abspaltung der Schutzgruppen wird das 3'/2'-Isomerenverhältnis zu $\approx 10:1$ bestimmt.

formamid erweist sich als geeignet: 3-minütiges Erhitzen liefert **14**, **11** bleibt unverändert^{*)}. Nachfolgende Säulenchromatographie liefert isomerenreines **11**.

Versetzt man **10** mit methanolischer Natriummethylat-Lösung, so erhält man innerhalb von 1.5 h quantitative Umsetzung zu 9-(2,3-Anhydro- β -D-ribofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (**15**). Im Gegensatz zur 5'-O-Pivaloyl-Gruppe wird die 2-N-Pivaloyl-Gruppe nur sehr langsam abgespalten, was auf die Ausbildung des N-1-Anions zurückzuführen ist. Längere Reaktionszeiten erweisen sich jedoch als ungünstig; man beobachtet Umwandlung in N -3 → C -3'-Cyclonucleoside (siehe unten).

Tetrabutylammoniumhydroxid¹⁸⁾ erweist sich zur schonenden Abspaltung der 2-N-Acyl-Gruppe ebenfalls als ungeeignet. Die Umwandlung von **15** in das freie Guanosinepoxid **16** läßt sich am günstigsten durch Röhren mit einer methanolischen Ammoniaklösung erzielen: nach 2–3 Tagen wird **16** zu 60% erhalten.

***N*-3 → *C*-3'-Cyclonucleosid-Bildung**

Wie man feststellt, sind Guanosinepoxid (**16**) sowie seine 2-N-Pivaloyl-Derivate **14**, **15** nicht stabil. In Wasser, Dimethylformamid, Hexamethylphosphorsäuretriamid sowie wäßrigem Methanol tritt bei Raumtemperatur langsam – beim Erhitzen innerhalb weniger Stunden – eine UV-spektroskopisch gut verfolgbare Veränderung der Epoxide ein (s. Abb. 1). In wasserfreiem Methanol und in Acetonitril scheint **15** jedoch stabil zu sein. Die in den anderen Lösungsmitteln beobachtete Umwandlung führen wir auf N -3 → C -3'-Cyclonucleosid-Bildung zurück. Unter Nachbargruppenbeteiligung des freien N -3-Stickstoffelektronenpaars erfolgt intramolekular Epoxid-Ringöffnung.

Während das 2-N-Pivaloylcyclonucleosid **17** bei DC in organischen Fließmitteln nahezu den gleichen R_F -Wert wie **15** zeigt, bleibt das unsubstituierte Cyclonucleosid **18** im Gegensatz zu **16** am Start sitzen. Umsetzung von **17** oder **18** mit Pivaloylchlorid liefert identisches **19**, dessen Massenspektrum den erwarteten Molekülpeak bei m/e 517 zeigt. Daraus ist zu schließen, daß **17** und **18** die gleiche Basisstruktur besitzen.

Die Guanosinepoxid-Zersetzungsprodukte ergeben mit *p*-Nitrobenzoldiazonium-tetrafluoroborat einen negativen Farbtest, ein Hinweis darauf, daß der Pyrimidinring noch intakt ist¹⁹⁾. Die spektroskopisch bestimmten pK_a -Werte von **17** und **18** lassen sich mit den angegebenen Konstitutionen in Einklang bringen. Der basische pK_a -Wert von **18** (3.78) dürfte auf die Protonierung an N-1 zurückzuführen sein. Durch den Einfluß der 2-N-Acyl-Gruppe wird in **17** diese Protonierung erschwert (pK_a 1.08). Das Cyclonucleosid **17** besitzt noch einen sauren pK_a -Wert bei 9.02, dessen Ursache in der Deprotonierung der 2-NH-Gruppe zu suchen ist. Das UV-Spektrum von Guanosinepoxid (**16**) (λ_{max} 252 nm) verschiebt sich bei Cyclonucleosid-Bildung nach 262 nm. Bei pH 7 und 80°C ist die Umwandlung **16** → **18** in 4 h vollständig (Abb. 1).

Auch die ¹H-NMR-Spektren von **16** und **18** unterscheiden sich charakteristisch (s. Tab. 3). Das N-1-H-Atom in **16** verschwindet beim Übergang zu **18**. Gleichzeitig tritt ein neues Signal bei δ = 6.9 auf, das sich mit D_2O austauschen läßt. Die Integration dieses Signals entspricht 3 Protonen und wir ordnen ihm die 2-NH₂- und 2'-OH-Gruppe zu. Das ¹H-NMR-Spektrum von **17** schließt die alternative N -3 → C -2'-Struktur aus. Das

^{*)} Erst nach 10 min beobachtet man Umwandlung von **11** in **14**.

Dublett ($J_{2',2'-OH} = 4$ Hz) bei $\delta = 6.5$ (2'-OH) verschwindet bei D_2O -Austausch. Gleichzeitig vereinfacht sich das breite Signal bei $\delta = 4.8$ (2'-H) zu einem scharfen Singulett.

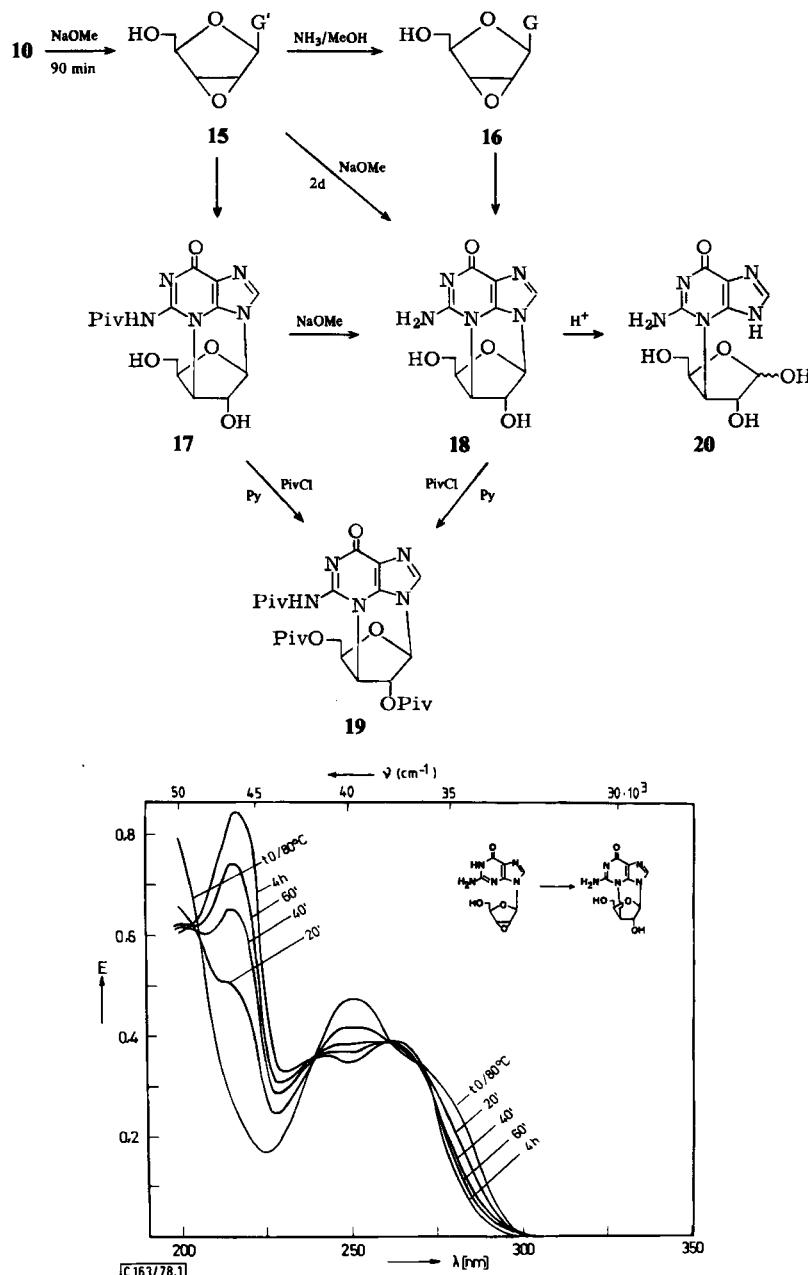


Abb. 1. Kinetik der Umwandlung von 9-(2,3-Anhydro- β -D-ribofuranosyl)guanin (**16**) in die 3,3'-Anhydro-Verbindung **18** in H_2O (pH 7, $80^\circ C$)

Wie aus dem Dreiding-Modell zu erschen, beträgt sowohl der Interplanarwinkel $C_{1'}\text{-H}/C_2\text{-H}$ als auch $C_{2'}\text{-H}/C_3\text{-H}$ annähernd 90° , d. h. $J_{1',2'}$ und $J_{2',3'}$ sind ungefähr Null. Für $J_{3',4'}$ wird ein Wert von 4 Hz ermittelt. Somit lassen sich die Signale bei $\delta = 6.5$ und 4.8 dem 2'-OH- und dem C-2'-Proton zuordnen.

Tab. 4. CD-Daten einiger Guanosin-nucleoside

Verbindung	λ_{\max} (nm)	Θ	Lösungsmittel
17	275, 236.5, 228.5	+ 36250, - 2136, ± 0	H_2O (pH 7)
18	265, 241.5, [234]	+ 16540, + 4410, + 9300	H_2O (pH 7)
10	255	- 4410	MeOH
11	260	- 11650	MeOH

Die Cyclonucleosid-Bildung ist von einer bemerkenswerten Änderung des CD-Spektrums begleitet. Während das Epoxid 16 nur sehr schwache Cotton-Effekte im Bereich 240 – 280 nm aufweist, treten im Spektrum von 18 große positive Effekte auf, die sich bei 2-N-Acylierung noch erhöhen (s. Tab. 4). Allgemein findet man für Cyclonucleoside aufgrund ihrer fixierten Konformation Cotton-Effekte von großen $[\Theta]$ -Werten²⁰⁾. Im Falle von 17 und 18 beträgt der Glycosyl-Torsionswinkel $T^{21)} = 110^\circ$, wobei Base- und Zuckerteil sich in *syn*-Stellung zueinander befinden. Ein Vergleich mit dem ebenfalls *syn*-fixierten $N\text{-}3 \rightarrow 5'$ -Anhydro-2',3'-*O*-isopropyliden- β -D-ribofuranosylguanin ergibt für die UV-Spektren Übereinstimmung, jedoch findet man im CD-Spektrum des $N\text{-}3 \rightarrow 5'$ -Cyclonucleosids bei pH 7 im Gegensatz zu 18 zwei negative Banden ($\lambda_{\max} = 248$ und 218 nm)^{20, 22)}. Entscheidend für den Cotton-Effekt ist offenbar nicht nur die Zucker-Base-Fixierung, sondern auch die Starrheit des Zuckerteils. Während im $N\text{-}3 \rightarrow 5'$ -Cyclonucleosid ein C-2', C-3'-*exo-endo*-Gleichgewicht möglich ist, sind die $N\text{-}3 \rightarrow C\text{-}3'$ -Cyclonucleoside 17 und 18 in C-3'-*endo*-Konformation fixiert.

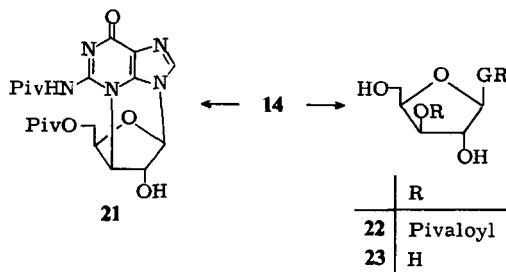
Die Kinetik der Umwandlung 16 → 18 folgt der pseudoersten Ordnung und läßt sich durch die Änderung des spezifischen Drehungsvermögens bei $\lambda = 365$ nm einfache verfolgen. Die $N\text{-}3 \rightarrow C\text{-}3'$ -Cyclonucleosid-Bildung ist stark temperaturabhängig und nach Messung bei drei Temperaturen (30, 50 und 75°C) läßt sich bei pH 7 die Aktivierungsenergie E_a zu 23.6 kcal bestimmen. Aus der pH-Abhängigkeit (Halbwertszeiten 75°C: pH 9 = 10 min, pH 5 = 58 min) folgt, daß für die Geschwindigkeit der Cyclonucleosid-Bildung die Verfügbarkeit des N-3-Elektronenpaars entscheidend ist. Schließlich haben wir noch die Hydrolyse des Cyclonucleosids 18 untersucht. Nach 50minütigem Rühren in 1 N HCl bei 80°C tritt vollständige Spaltung der glycosidischen Bindung ein, wobei das Spaltprodukt 20 ein ähnliches UV-Spektrum wie das Hydrolyse-Produkt von $N\text{-}3\text{-}C\text{-}5'$ -Anhydroguanosin²³⁾ zeigt.

Diese *intramolekulare* N-3-Alkylierung des Guaninteiles durch den Epoxidring steht im Gegensatz zur kürzlich berichteten *intermolekularen* 2-Amino-Alkylierung des Guanosins, bei der ein Epoxid-Derivat des Benzpyrens als alkylierendes Agens fungiert²⁴⁾.

xylo-Guanosin

xylo-Guanosin (23) wurde bisher nach der Methode der Zucker-Base-Verknüpfung dargestellt^{25–27)}, wobei die Kupplung des Trimethylsilyl-Derivats von 2-Amino-6-chlorpurin mit

2,3,5-Tri-*O*-acetyl-*D*-xylofuranosylbromid, gefolgt von Natriummethylat-Behandlung, die höchsten Ausbeuten gibt²⁷⁾. Beim Adenosin ist es möglich, mit Natriumbenzoat in Dimethylformamid den Epoxidring von 6,6,5'-*O*-Tribenzyloyladenosin-*ribo*-epoxid spezifisch in C-3'-Stellung zum *xylo*-Derivat zu öffnen^{17b)}. Wendet man diese Methode auf **14** an, so erhält man vollständige Umwandlung in das Cyclonucleosid **21**.



Epoxid-Ringöffnung ohne Cyclonucleosid-Bildung lässt sich jedoch in **14** durch Umsetzung mit Bortrifluorid-Etherat und anschließende Hydrolyse erreichen. Man erhält nahezu quantitativ 2-*N*,3'-*O*-Dipivaloyl-*xylo*-guanosin (**22**). Die ursprünglich C-5'-ständige Pivaloyl-Gruppe ist nach C-3' gewandert, was sich durch Nachbargruppenbeteiligung der C-5'-Pivaloyl-Gruppe erklären lässt. Es entsteht ein 3',5'-Benzoxonium-Ion²⁸⁾, das zu **22** hydrolysiert. Behandlung mit Tetrabutylammoniumhydroxid liefert *xylo*-Guanosin (**23**) mit 60% Ausbeute, bezogen auf **14**.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Unterstützung dieser Arbeit. Ebenso gilt unser Dank Herrn Professor *W. Pfleiderer* für seine zahlreichen Anregungen sowie Frau *M. Bischler* für die Aufnahmen der CD- und UV-Spektren.

Experimenteller Teil

Die allgemeinen Methoden sind im Detail in Lit.¹⁰⁾ angegeben.

2',3'-*O*-(1-Methoxyethylidene)guanosin (2**):** Die Suspension von 16.8 g (0.06 mol) Guanosin (**1**), getrocknet bei 100°C i. Vak., in 100 ml absol. DMF wird rasch mit 50 ml (0.4 mol) Trimethyl-orthoacetat und 30 ml 8 M HCl in absol. DMF bei Raumtemp. 30 min gerührt, wobei eine klare Lösung entsteht. Anschließend wird mit Natriummethylatlösung neutralisiert und im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und die wässrige Lösung 24 h kontinuierlich mit Essigester extrahiert. Aus der organischen Phase fällt der Großteil von **2** analysenrein aus. Ausb. 15 g (75%). Die Essigesterlösung, die neben **2** noch ein Nebenprodukt mit größerem *R*_F-Wert enthält (wahrscheinlich das 5'-Acetyl-*endo*-Derivat von **2**), wird i. Vak. eingeengt. Bei Behandlung des Rückstandes mit Natriummethylat wird das Nebenprodukt in **2** umgewandelt und es lassen sich weitere 3 g (15%) an **2** gewinnen. Gesamtausb. 18 g (90%). Schmp. 258°C.

UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 254 nm (4.14), Schulter bei 270 (4.01). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 1.50, 1.60 (*exo*, *endo*, s, s, 3H, CCH₃), 3.16, 3.30 (*endo*, *exo*, s, s, 3H, OCH₃), 3.55 (m, 2H, 5'-H, 5'-H), 4.1 (m, 1H, 5'-OH), 4.2 bis 5.4 (m, 3H, 2'-H, 3'-H, 4'-H), 5.95, 6.08 (*exo*, *endo*, d, d, *J*_{1',2'} = 2.5 Hz, 1H, 1'-H), 8.08 (s, 1H, 8-H), 10.64 (s, 1H, 1-NH). Das Verhältnis *exo*:*endo*-Diastereomeres beträgt 1:2.

C₁₃H₁₇N₅O₆ (339.3) Ber. C 46.01 H 5.05 N 20.65 Gef. C 46.08 H 5.05 N 20.64

9-(2-O-Acetyl-3-chlor-3-desoxy-5-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin sowie das entsprechende 2'-Chlor- β -D-arabinofuranosyl-Isomere (Mischung 3a/4a) und 9-[3-Chlor-3-desoxy-2-O-(4,4-dimethyl-3-pivaloyloxy-2-pentenoyl)-5-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl]-2-N-pivaloylguanin sowie das entsprechende 2'-Chlor- β -D-arabinofuranosyl-Isomere (Mischung 3b/4b): Zu 3.0 g (0.009 mol) 2 in 60 ml trockenem Pyridin werden bei Raumtemp. 12 ml (0.09 mol) Pivaloylchlorid getropft. Anschließend wird 2 h bei 120°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird mit 30 ml absol. Methanol versetzt, 1 h bei Raumtemp. gerührt, eingeengt, der Rückstand mit 200 ml Essigester aufgenommen und die Lösung mit 300 ml 5 proz. Natriumhydrogencarbonatlösung 10 min gerührt. Die Essigesterphase wird abgetrennt und die wäßrige Phase zweimal mit je 250 ml Essigester gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet (Na_2SO_4) und zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird auf eine Kieselgelsäule (3.5 x 40 cm, 170 g) gegeben. Man eluiert mit Essigester. Die 50-ml-Fraktionen 8 – 10 ergeben nach Einengen i. Vak. 720 mg (12%) 3b/4b-Gemisch. Im NMR-Spektrum sind nur die auf 3b zurückzuführenden Signale eindeutig erkennbar (s. Tab. 1). MS: m/e 679.2996, berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{46}^{35}\text{ClN}_4\text{O}_8$: 679.2985. Aus den Fraktionen 13 – 15 wird 1 g (22%) der Mischung 3a/4a isoliert.

MS: m/e 511.1828, berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{30}^{35}\text{ClN}_5\text{O}_7$: 511.1834.

9-[2-Desoxy-3-O-(4,4-dimethyl-3-pivaloyloxy-2-pentenoyl)-2-iod-5-O-pivaloyl- β -D-arabinofuranosyl]-2-N-pivaloylguanin (5) und 9-[3-Desoxy-2-O-(4,4-dimethyl-3-pivaloyloxy-2-pentenoyl)-3-iod-5-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl]-2-N-pivaloylguanin (6): 4.0 g (0.012 mol) 2 werden mit 40 g (0.27 mol) Natriumiodid (bei 100°C über P_2O_5 , getrocknet) in 100 ml Pyridin suspendiert, bei 110°C mit 12 ml (0.09 mol) Pivaloylchlorid versetzt und 10 min bei dieser Temp. gehalten. Nach dem Abkühlen wird mit 20 ml absol. Methanol versetzt. Nach 24 h Röhren bei Raumtemp. wird auf 200 ml einer wäßrigen Lösung von je 5 g Natriumhydrogencarbonat und Natriumthiosulfat gegossen. Das Reaktionsprodukt wird mit 500 ml Ether extrahiert, die Etherphase mit zweimal 100 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Rotationsverdampfer eingedampft. Man erhält einen dunkelvioletten gefärbten Rückstand, der über eine Kieselgelsäule (2 cm x 20 cm, 20 g, Elutionsmittel Ether) vorgereinigt wird. Die Hauptfraktion wird erneut auf eine Kieselgelsäule (3.5 cm x 40 cm; 170 g/Fraktionen zu 50 ml) gegeben. Man eluiert mit Ether. Die Fraktionen 15 – 20 enthalten 3.3 g (35%) des Gemisches 5/6. Im NMR-Spektrum sind nur die auf 5 zurückzuführenden Signale eindeutig erkennbar.

UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 257 nm (4.24), Schulter bei 280 (4.12). – MS: m/e 771.2374, berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{46}^{127}\text{IN}_5\text{O}_9$: 771.2341.

9-[3-Desoxy-2-O-(4,4-dimethyl-3-pivaloyloxy-2-pentenoyl)-5-O-pivaloyl- β -D-glycero-pent-3-enofuranosyl]-2-N-pivaloylguanin (7): 1.2 g (1.55 mmol) 6 (erhalten aus einem analogen Experiment wie oben, jedoch als chromatographisch einheitliche Fraktion abgetrennt) und 1.3 g (0.8 mmol) Silberacetat werden in 50 ml Pyridin 18 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird mit 100 ml 5 proz. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und 4 mal mit je 50 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und im Rotationsverdampfer eingeengt. Der Rückstand wird auf eine Kieselgelsäule (2 cm x 20 cm) gegeben und mit Ether eluiert. Die Hauptfraktion ergibt 980 mg (98%) 7 als chromatographisch einheitlichen farblosen Schaum. Davon werden 200 mg in Ether gelöst, bis zum Auftreten einer Trübung mit Pentan versetzt, und durch Diffusion von Pentandampf in die Lösung lassen sich 100 mg (49%) 7 in farblosen Nadeln gewinnen. Schmp. 113 – 115°C.

UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 253 nm (4.22), Schulter bei 278 (4.07).

$\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_9$ (643.7) Ber. C 59.71 H 7.04 N 10.88 Gef. C 59.56 H 7.03 N 10.71

9-(3-Chlor-3-desoxy-5-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl)-2-N-pivaloyl-guanin (8) und 9-(2-Chlor-2-desoxy-5-O-pivaloyl- β -D-arabinofuranosyl)-2-N-pivaloyl-guanin (9): 1.0 g (1.5 mmol) des Gemisches 3b/4b werden in 15 ml Pyridin und 8 ml Wasser bei 0 – 5°C mit 1 g (6.3 mmol) Kaliumpermanganat

2 h gerührt. Dann werden 15 ml kaltes Ethanol zugefügt, weitere 2 h bei obiger Temp. und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktionslösung wird durch Kieselgur filtriert, der Filterkuchen mit 100 ml Ethanol gewaschen und die vereinigten Filtrate i. Vak. zur Trockne eingeengt. Der zurückbleibende Schaum wird mit je 100 ml Wasser und Essigester versetzt, die organische Phase abgetrennt, mit zweimal je 50 ml Wasser gewaschen und nach dem Trocknen (Na_2SO_4) im Rotationsverdampfer eingeengt. Man erhält 740 mg eines gelblichen Schaums. Dieser wird in einem 50:1-Ether/Methanol-Gemisch gelöst. Aus der Lösung kristallisieren durch Pentandiffusion 260 mg (38%) **8** aus. Wird die Mutterlauge durch präp. DC aufgetrennt (Fließmittel Chloroform/Methanol, 20:1), lassen sich weitere 240 mg (35%) **8** gewinnen. Schmp. 201 °C.

UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 256 nm (4.18), Schulter bei 278 (4.05).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{ClN}_5\text{O}_6$ (469.9) Ber. C 51.12 H 6.01 Cl 7.54 N 14.90
Gef. C 51.13 H 6.04 Cl 7.68 N 14.73

Bei obiger präp. Schichtchromatographie wird eine weitere Zone mit geringerem R_F -Wert beobachtet. Aufarbeitung ergibt 40 mg (6%) **9**.

9-(3-Desoxy-3-iod-5-O-pivaloyl- β -D-xylosylfuranosyl)-2-N-pivaloyl-guanin (10**) und 9-(2-Desoxy-2-iod-5-O-pivaloyl- β -D-arabinofuranosyl)-2-N-pivaloyl-guanin (**11**):** Die Lösung von 3.0 g (0.009 mol) **2** in 90 ml Pyridin wird mit 30 g (0.02 mol) getrocknetem Natriumiodid auf 110 °C erhitzt. Zu der Suspension werden rasch 9 ml (0.066 mol) Pivaloylchlorid hinzugefügt und weitere 10 min bei obiger Temp. gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit Eiswasser gekühlt und mit 15 ml absol. Methanol versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemp. wird auf 500 ml einer wäßrigen Lösung von je 25 mg Natriumhydrogencarbonat und Natriumthiosulfat gegossen. Das Reaktionsprodukt wird mit 500 ml Ether extrahiert, die Etherphase mit je 200 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Rotationsverdampfer auf \approx 50 ml eingeengt. Die dunkelbraun gefärbte Lösung wird mit 25 ml Wasser verdünnt, auf 0 °C abgekühlt und mit 5.5 g (0.035 mol) Kaliumpermanganat versetzt. Nach 2 h Rühren bei 0 °C gibt man 40 ml kaltes Ethanol zu, röhrt weitere 2 h bei 0 °C und über Nacht bei Raumtemp., filtriert das Mangandioxid ab, wäscht den Filterkuchen dreimal mit je 100 ml Ethanol und dampft das Filtrat im Rotationsverdampfer ein. Der zurückbleibende Schaum wird in 200 ml Wasser und 200 ml Essigester gelöst. Die organische Phase wird eingeengt und der Rückstand auf eine Kieselgelsäule (3 cm \times 40 cm, 170 g) gegeben. Man eluiert mit Chloroform/Methanol (100:1). Die 20-ml-Fraktionen 50–65 ergeben nach Eindringen i. Vak. 2 g Rohprodukt, das **10** und **11** enthält. (Eine quantitative Trennung von **10** und **11** gelang nicht; zur Reindarstellung von **11** siehe unten). Diese 2 g werden in Methanol gelöst, und durch Diffusion von Etherdampf in die Lösung werden 1.5 g (30%) analysenreines **10** erhalten. Schmp. 165–167 °C.

UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 258 nm (4.20), Schulter bei 280 (4.08). — MS: m/e 561.1063, ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{28}{^{127}\text{IN}_5}\text{O}_6$: 561.1085.

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{IN}_5\text{O}_6$ (561.1) Ber. C 42.79 H 5.03 I 22.60 N 12.48
Gef. C 42.98 H 5.13 I 22.69 N 12.23

3'-Desoxyguanosin (**12**) und 2'-Desoxyguanosin (**13**)^{12–15}

Methode A (aus Gemisch **10/11**): Eine Lösung von 1.2 g (2.1 mmol) **10/11**-Gemisch (Rohprodukt) wird in 60 ml Ethanol/Wasser (3:1) in Gegenwart von 3 g Natriumacetat und 900 mg Pd/Aktivkohle (10%) 12 h bei 5 at H₂-Druck hydriert. Anschließend wird durch Kieselgur filtriert, der Filterkuchen mit 100 ml Ethanol gewaschen und das Filtrat im Rotationsverdampfer eingedampft. Nach Zugabe von 50 ml Natriummethylatlösung (1.25 g) wird 2 Tage bei Raumtemp. gerührt, im Rotationsverdampfer eingedampft, mit wenig Wasser aufgenommen und auf eine Dowex-Säule 1 \times 2 (OH[–]-Form, 200–400 mesh, 2 \times 40 cm) aufgegeben. Es wird mit 0.03 M Triethylammoniumhydrogencarbonatlösung eluiert (20-ml-Fraktionen). Die Fraktionen 140–230 ent-

halten 420 mg (74%) **12**, das aus Wasser/Ethanol (5:1) (150 mg/10 ml, Ausb. 60 mg) kristallisiert. Schmp. > 350°C (Lit.¹²⁾ > 198°C; Lit.^{13, 14)} > 300°C).

UV (pH 1): λ_{\max} (lg ε) = 255 nm (4.07), Schulter bei 275 (3.89); (pH 7): λ_{\max} (lg ε) = 252 nm (4.09), Schulter bei 270 (3.97).

C10H13N5O4 · H2O (285.3) Ber. C 42.13 H 5.30 N 24.56 Gef. C 42.65 H 5.30 N 24.27

Das ¹H-NMR-Spektrum in [D₆]DMSO zeigte 1 Mol. Kristallwasser.

Die Fraktionen 250 – 300 liefern 40 mg (7%) **13**, identisch mit authentischem Material (Schmp. > 350°C, Chromatogramm).

Methode B (aus Gemisch **3a/4a**): Zu 1 g (2 mmol) des Gemisches **3a/4a** und 100 mg 2,2'-Azo-bisisobutyronitril (0.6 mmol) in absol. Benzol werden 2 ml Tributylzinnhydrid gegeben. Nach 1.5 h Kochen unter Rückfluß wird im Rotationsverdampfer zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 50 ml Pentan digeriert. Der Niederschlag wird filtriert, mit Pentan gewaschen, in Methanol gelöst und erneut eingeengt. Der Rückstand wird mit 20 ml Natriummethylatlösung (500 mg Na) 12 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Neutralisation mit 5 N Essigsäure wird i. Vak. eingedampft. Man stellt fest, daß der Großteil des Gemisches noch die Acylgruppe an der NH₂-Gruppe trägt. Der Rückstand wird daraufhin in 10 ml Methanol mit 10 ml einer gesättigten methanolischen Ammoniaklösung 2 Tage gerührt. Das erhaltene Gemisch **12**, **13** wird aufgetrennt wie unter Methode A beschrieben. Ausbeute an **13**: 50 mg (9%), an **12**: 400 mg (78%).

9-(2,3-Anhydro-5-O-pivaloyl-β-D-ribofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (14) und 9-(2-Desoxy-2-iod-5-O-pivaloyl-β-D-arabinofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (11): Die Lösung von 1.3 g (0.0024 mol) des Gemisches **10/11** in 50 ml absol. DMF wird mit 1.0 g (0.0054 mol) Phthalimidkalium 3 min auf 80°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird i. Vak. zur Trockne eingeengt, der Rückstand mit 100 ml Essigester und 50 ml Wasser versetzt; die organische Phase wird abgetrennt und die wäßrige Phase zweimal mit je 50 ml Essigester gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und im Rotationsverdampfer eingeengt. Der resultierende Schaum wird mit Ether/Chloroform (1:1) versetzt, ungelöstes Phthalimid abfiltriert und das Filtrat auf eine Kieselgelsäule (3 × 40 cm, 150 g) gegeben. Man eluiert in folgender Reihenfolge: 500 ml Ether/Chloroform (3:2), 500 ml Ether/Chloroform (2:3), 500 ml Ether/Chloroform (1:4), 700 ml Chloroform und 500 ml Methanol/Chloroform (1:50). Die 50-ml-Fraktionen 25 – 30 enthalten Phthalimid, 41 – 45 600 mg **14**, 46 – 55 200 mg eines 1:1-Gemisches **14/11**. Diese Mischung wird durch präp. DC aufgetrennt (Fließmittel: Chloroform/Methanol 20:1, zweimal entwickelt). Die Aufarbeitung ergibt weitere 100 mg **14** (Gesamtausb. 70%) sowie 70 mg (5.5%) **11**.

14: Schmp. 169 – 173°C. – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ε) = 257 nm (4.15), Schulter bei 280 (4.02). MS: *m/e* 433.1961, ber. für C20H27N5O6: 433.1961.

11: Schmp. 182 – 185°C. – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ε) = 257 nm (4.33), Schulter bei 278 (4.19). – MS: *m/e* 561.1063, ber. für C20H27N5O6: 561.1085.

9-(2,3-Anhydro-β-D-ribofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (15): 505 mg (0.9 mmol) **10** werden in 20 ml Natriummethylatlösung (0.62 g Na) 90 min gerührt. Nach Neutralisation mit 5 N Essigsäure wird mit 20 ml Wasser versetzt und auf ca. 20 ml eingeengt. Der ausgefallene farblose Niederschlag ergibt nach dem Trocknen 200 mg vom Schmp. 154 – 156°C. Aus dem Filtrat lassen sich durch Extraktion mit 200 ml Essigester weitere 100 mg **15** (Gesamtausb. 97%) isolieren. Zur Umkristallisation suspendiert man 100 mg in 20 ml Ether und fügt tropfenweise Methanol zu, bis eine klare Lösung entsteht. Durch Diffusion von Pentandampf in die Lösung erhält man 60 mg **15** vom Schmp. 154 – 156°C.

UV (Methanol): λ_{\max} (lg ε) = 258 nm (4.18), Schulter bei 275 (4.08). pK_a-Werte (spektrophotometrisch bestimmt): 1.26 und 8.47.

C15H19N5O5 (349.3) Ber. C 51.57 H 5.48 N 20.05 Gef. C 51.36 H 5.46 N 20.09

9-(2,3-Anhydro- β -D-ribofuranosyl)guanin (16): 70 mg (0.2 mmol) 15 in 4 ml absol. Methanol werden mit 4 ml gesättigter methanolischer Ammoniaklösung bei 25°C 2 d gerührt. Anschließend wird im Rotationsverdampfer eingeengt und der Rückstand aus Wasser umkristallisiert. Dabei tritt teilweise Umwandlung in 18 (siehe unten) ein. Man erhält 30 mg (60%) 16 als farblose Kristalle mit Zers.-P. 220–223°C.

UV (H₂O): λ_{max} (lg ϵ) = 252 nm (4.13), Schulter bei 270 (4.01).

C₁₀H₁₁N₅O₄ · H₂O (283.2) Ber. C 42.41 H 4.63 N 24.73 Gef. C 42.83 H 4.12 N 24.86

Das Mol. Kristallwasser ließ sich ¹H-NMR-spektroskopisch ([D₆]DMSO) nachweisen.

3,3'-Anhydro-9-(β -D-xylofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (17): 150 mg (0.43 mmol) 15 werden mit 50 ml Pufferlösung pH 7 24 h bei 80°C gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung 12 h kontinuierlich mit Essigester extrahiert. Die Essigesterlösung wird mit Ether versetzt, wobei ein farbloser Niederschlag ausfällt. Man filtriert ab und erhält nach dem Trocknen 55 mg 17. Das Filtrat wird im Rotationsverdampfer eingeengt, der Rückstand in 20 ml Ether/Methanol (10:1) gelöst, und durch Diffusion von Pentandampf in die Lösung kristallisieren weitere 40 mg 17 aus (Gesamtausb. 65%). Schmp. 207–210°C.

UV (pH 7): λ_{max} (lg ϵ) = 276 nm (4.26). pK_a-Werte (spektrophotometrisch bestimmt): 1.08 und 9.02. – MS: m/e 349.1382, ber. für C₁₅H₁₉N₅O₅: 349.1384.

Im Massenspektrum sind noch höhere Peaks erkennbar, die wahrscheinlich auf intermolekulare Übertragung von Pivaloylgruppen zurückzuführen sind.

3,3'-Anhydro-9-(β -D-xylofuranosyl)guanin (18): 250 mg (0.45 mmol) 10 werden in 10 ml Natrium-methylatlösung (250 mg Na) 2 d bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt und der Rückstand in 10 ml Wasser auf eine Dowex-Säule 1 × 2 (OH⁻-Form, 2 × 20 cm) gegeben. Nach dem Eluieren mit Wasser (500 ml) wird mit 0.04 M Triethylammoniumhydrogencarbonatlösung eluiert (20-ml-Fraktionen). Die Fraktionen 50–60 enthalten 18 und werden i. Vak. eingeengt. Zur Entfernung des Triethylammoniumhydrogencarbonats wird mit Wasser digeriert und erneut eingeengt. Dieser Prozeß wird mehrfach wiederholt und anschließend mit Ethanol durchgeführt. Der Rückstand wird aus Wasser kristallisiert: 70 mg (58%) feine farblose Kristalle. Zur Umkristallisation löst man in heißem Methanol/Wasser (1:1) und läßt Etherdampf eindiffundieren. Schmp. > 350°C.

UV (pH 1): λ_{max} (lg ϵ) = 245 nm (4.14). (pH 7): λ_{max} (lg ϵ) = 262 nm (4.07). (pH 10): λ_{max} (lg ϵ) = 262 nm (4.08). pK_a-Wert (spektrophotometrisch bestimmt): 3.78.

C₁₀H₁₁N₅O₄ (265.2) Ber. C 45.29 H 4.18 N 26.41 Gef. C 45.52 H 4.14 N 26.36

3,3'-Anhydro-9-(2,5-di-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (19):

Methode A: 30 mg (0.08 mmol) 17 werden in 5 ml Pyridin mit 0.2 ml (1.66 mmol) Pivaloylchlorid 4 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird mit 0.2 ml Wasser versetzt und im Rotationsverdampfer eingeengt. Der Rückstand wird mit Chloroform und 50 ml 5 proz. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und i. Vak. eingeengt. Der gelbliche Schaum wird durch präp. DC (Fließmittel Essigester) gereinigt. Aufarbeitung der Hauptzone ergibt 30 mg (68%) 19. – MS: m/e = 517 (M⁺).

Methode B: 40 mg (0.15 mmol) 18 werden in 5 ml Pyridin mit 0.4 ml (3.3 mmol) Pivaloylchlorid 6 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Versetzen mit 0.4 ml Wasser wird analog zu Methode A aufgearbeitet, wobei sich 35 mg (45%) 19 ergeben.

Umwandlung von 14 in 3,3'-Anhydro-9-(5-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl)-2-N-pivaloylguanin (21): Eine Lösung von 100 mg (0.23 mmol) 14 in 20 ml Methanol/Wasser (1:1) wird mit 70 mg Natriumbenzoat 2 h bei 95°C gerührt. Man dampft im Rotationsverdampfer ein und fügt 40 ml Wasser/Essigester (1:1) zum Rückstand. Die organische Phase enthält 50 mg eines Produkts, dessen

¹H-NMR-Spektrum mit Konstitution **21** im Einklang ist. – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 277 nm (4.32).

Wie sich chromatographisch nachweisen lässt, findet die Umwandlung **14** → **21** auch bei Erhitzen in Lösungsmitteln statt (z. B. Wasser/Ethanol, in Dimethylformamid sowie in Hexamethylphosphorsäuretriamid).

2-N-Pivaloyl-9-(3-O-pivaloyl- β -D-xylofuranosyl)guanin (22): Eine Lösung von 400 mg (0.9 mmol) **14** in 16 ml absol. Acetonitril und 2 ml Bortrifluorid-Etherat wird 10 min bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit 10 ml absol. Methanol versetzt und eine weitere Stunde bei Raumtemp. gerührt, ehe die Mischung auf 100 ml 5 proz. Natriumhydrogencarbonatlösung gegossen wird. Man entfernt das Methanol im Rotationsverdampfer und extrahiert die verbleibende wässrige Lösung mit 300 ml Essigester. Die organische Phase wird mit 100 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Rotationsverdampfer eingeengt. Man erhält einen gelblichen, chromatographisch einheitlichen Schaum. Ausb. 370 mg (90%). 200 mg des Schaumes werden in Methanol gelöst und mit Pentan mittels Diffusion kristallisiert. Man erhält 75 mg **22** vom Schmp. 226 – 229 °C.

UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 258 nm (4.16), Schulter bei 278 (4.03).

*xylo-Guanosin (23)*²²⁻²⁴⁾: Eine Lösung von 150 mg (0.33 mmol) **22** in 3 ml wässrigem 40 proz. Tetrabutylammoniumhydroxid und 5 ml Methanol werden 24 h bei Raumtemp. gerührt. Das Reaktionsprodukt wird auf eine Dowex-Säule 1 × 2 (OH⁻-Form, 2.2 cm × 20 cm) gegeben und mit 0.04 M Triethylammoniumhydrogencarbonatlösung eluiert (20-ml-Fraktionen). Die Fraktionen 50 bis 65 enthalten 55 mg *xylo-Guanosin* (60%) als chromatographisch reines, amorphes Pulver, das aus Wasser (100 mg in ca. 10 ml) umkristallisiert werden kann. Schmp. 237 °C, Lit.²³⁾ 241 °C.

UV (Wasser): λ_{\max} (lg ϵ) = 252 nm (4.15), Schulter 270 (4.01) [Lit.²³⁾: UV (pH 6): λ_{\max} (lg ϵ) = 253 nm (4.12), Schulter bei 270].

Literatur

- ¹⁾ IV. Mitteil.: R. Mengel und J. M. Seifert, Tetrahedron Lett. **1977**, 4203.
- ²⁾ Zusammenfassung: C. I. Pogson, Am. J. Clin. Nutr. **27**, 380 (1974).
- ³⁾ W. W. Lee, A. P. Martinez, L. Goodman und D. W. Henry, J. Org. Chem. **37**, 2923 (1972), und dort zitierte Literatur.
- ⁴⁾ G. B. Elion, J. L. Rideout, P. de Miranda, P. Collins und D. J. Bauer, Ann. N. Y. Acad. Sci. **255**, 468 (1975).
- ⁵⁾ T. Nakaniishi, T. Iida, F. Tomita und A. Furuya, Chem. Pharm. Bull. **24**, 2955 (1976).
- ⁶⁾ M. J. Robins, R. Mengel, R. A. Jones und Y. Fouron, J. Am. Chem. Soc. **98**, 8204 (1976).
- ^{7a)} Vorläufige Mitteilung dieses Syntheseweges R. Mengel und W. Muhs, Nucleic Acids Research, Spec. Publ. (1975), No. 1 s 41. – ^{7b)} T. C. Jain und J. G. Moffatt, Abstr. Papers 165th National Meeting American Chemical Society Carb. 015 (1973).
- ⁸⁾ J. Zemlicka, S. Chladek, A. Holy und J. Smrt, Collect. Czech. Chem. Commun. **31**, 3198 (1966).
- ⁹⁾ Die für 2',3'-O-(1-Methoxyethyliden)adenosin beschriebene Methode (Trimethylorthooacetat, Trichloressigsäure und 1 in Dioxan⁶⁾) gibt unvollständige Umsetzung.
- ¹⁰⁾ R. Mengel und W. Muhs, Liebigs Ann. Chem. **1977**, 1585.
- ¹¹⁾ S. Chladek und J. Smrt, Collect. Czech. Chem. Commun. **29**, 226 (1964).
- ¹²⁾ K. K. Ogilvie, L. Slotin, J. B. Westmore und D. Lin, Can. J. Chem. **50**, 3276 (1972).
- ¹³⁾ S. R. Jenkins, F. W. Holly und E. Walton, J. Org. Chem. **30**, 2851 (1965).
- ¹⁴⁾ G. L. Tong, K. J. Ryan, W. W. Lee, E. M. Acton und L. Goodman, J. Org. Chem. **32**, 859 (1967).
- ¹⁵⁾ J. J. K. Novak und F. Sorm, Collect. Czech. Chem. Commun. **38**, 1173 (1973).
- ¹⁶⁾ Beispiele finden sich in einem Übersichtsartikel von L. Goodman in Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry, Vol. 1, p 93ff, Ed. P. O. P. Is' O, Academic Press, New York 1974.
- ^{17a)} A. F. Russell, S. Greenberg und J. G. Moffatt, J. Am. Chem. Soc. **95**, 4025 (1973). – ^{17b)} M. J. Robins, Y. Fouron und R. Mengel, J. Org. Chem. **39**, 1564 (1974).
- ¹⁸⁾ B. E. Griffin, M. Jarman und C. B. Reese, Tetrahedron **24**, 639 (1967).

- ¹⁹⁾ Y. Suzuki, Bull. Chem. Soc. Jpn. **47**, 898 (1974).
- ²⁰⁾ D. W. Miles, R. K. Robins und H. Eyring, Proc. Nat. Acad. Sci. **57**, 1138 (1967).
- ²¹⁾ J. Donohue und K. N. Trueblood, J. Mol. Biol. **2**, 363 (1960).
- ²²⁾ W. Voelter, G. Barth, R. Records, E. Bunnenberg und C. Djerassi, J. Am. Chem. Soc. **91**, 6165 (1969).
- ²³⁾ R. E. Holmes und R. K. Robins, J. Org. Chem. **28**, 3483 (1963).
- ²⁴⁾ A. M. Jeffrey, K. W. Jenette, S. H. Blobstein, I. B. Weinstein, F. A. Beland, R. G. Harvey, H. Kasai, I. Miura und K. Nakanishi, J. Am. Chem. Soc. **98**, 5714 (1976).
- ²⁵⁾ S. Suzuki, A. Yamazaki, A. Kamimura, K. Mitsuji und I. Kumashiro, Chem. Pharm. Bull. **18**, 179 (1970).
- ²⁶⁾ W. W. Lee, A. P. Martinez und L. Goodman, J. Org. Chem. **36**, 842 (1971).
- ²⁷⁾ W. W. Lee, A. P. Martinez, L. Goodman und D. W. Henry, J. Org. Chem. **37**, 2923 (1972).
- ²⁸⁾ ^{28a)} J. G. Buchanan und A. R. Edgar, Chem. Commun. **1967**, 29. — ^{28b)} M. J. Robins, Y. Fouron und W. H. Muhs, Can. J. Chem. **55**, 1260 (1977).

[163/78]