

HELMUT ZINNER und ECKARD WITTENBURG

## Synthese des 9-[2'-Desoxy-D-ribo-pyranosyl]-adenins

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Rostock

(Eingegangen am 12. Dezember 1961)

Aus 1-Chlor-3.4-di-*p*-toluyl-2-desoxy-D-ribose und 6-Benzamino-purin-quecksilberchlorid oder 6-Chlor-purin-quecksilberchlorid wird 9-[2'-Desoxy-D-ribo-pyranosyl]-adenin dargestellt. Man erhält zunächst ein Gemisch aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Verbindung; letztere wird durch fraktionierte Kristallisation rein gewonnen.

Für die natürlich vorkommenden 2'-Desoxy-ribonucleoside 2'-Desoxy-cytidin<sup>1)</sup>, Thymidin<sup>1-3)</sup>, 2'-Desoxy-adenosin<sup>4-6)</sup> und 2'-Desoxy-guanosin<sup>7)</sup> sind in den letzten Jahren Synthesen beschrieben worden. Die entsprechenden unnatürlichen 2'-Desoxy-ribonucleoside, in denen der Zuckeranteil als Pyranose vorliegt, sind bisher nicht bekannt. J. DAVOLL und B. LYTHGOE<sup>8)</sup> sowie M. VISCONTINI und S. HUWYLER<sup>9)</sup> versuchten vergeblich, ein 2'-Desoxy-D-ribo-pyranosyl-adenin zu synthetisieren. Nachdem es uns gelungen war, die kristallisierte 1-Chlor-3.4-di-*p*-toluyl-2-desoxy-D-ribo-pyranose darzustellen<sup>10)</sup>, setzten wir diese Verbindung erfolgreich zur Synthese des 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribo-pyranosyl]-adenins ein, worüber hier berichtet werden soll.

Zunächst kondensierten wir 1-Chlor-3.4-di-*p*-toluyl-2-desoxy-D-ribo-pyranose<sup>10)</sup> (I) mit 6-Benzamino-purin-quecksilberchlorid<sup>11)</sup> (IIa) durch Kochen in trockenem Xylol zum 6-Benzamino-9-[3'.4'-di-*p*-toluyl-2'-desoxy-D-ribo-pyranosyl]-purin (IIIa). Diese Verbindung kristallisiert nicht. Sie wird nach dem Abtrennen des nicht umgesetzten Benzamino-purin-quecksilberchlorids mit Bariummethylat in Methanol entacyliert<sup>12)</sup>. Aus dem so erhaltenen Sirup läßt sich das 9-[2'-Desoxy-D-ribo-pyranosyl]-adenin (IV) als Pikrat mit einer Ausbeute von 25% d. Th., bezogen auf eingesetzten Chlor-acyl-zucker I, isolieren.

Aus dem Pikrat gewinnt man das freie Nucleosid IV durch Behandeln mit dem Ionenaustauscher „Dowex 2“ mit sehr guter Ausbeute (85–95% d. Th.). Die Ver-

<sup>1)</sup> M. HOFFER, R. DUSCHINSKY, J. J. FOX und N. YUNG, J. Amer. chem. Soc. **81**, 4112 [1959].

<sup>2)</sup> D. M. BROWN, D. B. PARIHAR, C. B. REESE und A. TODD, J. chem. Soc. [London] **1958**, 3035.

<sup>3)</sup> G. SHAW und R. N. WARRENER, J. chem. Soc. [London] **1959**, 50.

<sup>4)</sup> C. D. ANDERSON, L. GOODMAN und B. R. BAKER, J. Amer. chem. Soc. **81**, 3967 [1959].

<sup>5)</sup> R. K. NESS und H. G. FLETCHER, J. Amer. chem. Soc. **82**, 3434 [1960].

<sup>6)</sup> C. PEDERSEN und H. G. FLETCHER, J. Amer. chem. Soc. **82**, 5210 [1960].

<sup>7)</sup> H. VENNERS, Chem. Ber. **93**, 140 [1960].

<sup>8)</sup> J. chem. Soc. [London] **1949**, 2526.

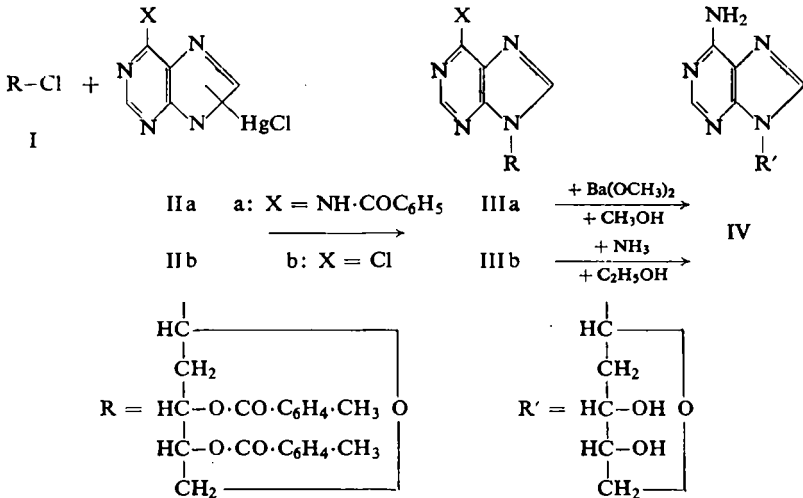
<sup>9)</sup> Helv. chim. Acta **43**, 782 [1960].

<sup>10)</sup> H. ZINNER und E. WITTENBURG, Chem. Ber. **94**, 2072 [1961].

<sup>11)</sup> J. DAVOLL und B. A. LOWY, J. Amer. chem. Soc. **73**, 1650 [1951].

<sup>12)</sup> Für die Entacylierung ist eine relativ große Menge an Bariummethylat erforderlich (siehe Versuchsteil). Das ist darauf zurückzuführen, daß ein Teil des Bariummethylats unter Bildung von Bariumtoluat der Katalysatorwirkung entzogen wird. Man muß daher so viel Bariummethylat zusetzen, daß am Ende der Reaktion noch eine deutlich alkalische Reaktion (pH 9) festzustellen ist. Nach Beendigung der Entacylierung wird auch nur ein Teil der theoretisch erforderlichen Menge an verd. Schwefelsäure benötigt.

bindung IV ist jedoch nicht einheitlich, sie besteht aus einem Gemisch von  $\alpha$ - (IVa) und  $\beta$ -Isomerem (IVb), wobei die  $\beta$ -Verbindung überwiegt. Dies steht in Übereinstimmung mit der „*trans*-Regel“<sup>13)</sup>, wonach wegen des Fehlens der 2-Acyloxygruppe beim eingesetzten Chlor-acyl-zucker I beide Anomeren des Nucleosids entstehen müssen. Aus dem erhaltenen rohen 9-[2'-Desoxy- $\alpha,\beta$ -D-ribosepyranosyl]-adenin kann durch fraktionierte Kristallisation mit Methanol und nach Umkristallisieren aus Wasser, das reine, chromatographisch einheitliche 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribosepyranosyl]-adenin (IVb) mit einer Ausbeute von 4–5% d. Th., bezogen auf eingesetzten Chlor-



acyl-zucker, gewonnen werden. Die reine Verbindung zeigt einen Schmelzpunkt von 262–264° und eine spezif. Drehung von  $-17.8^\circ$  in Wasser. Aus den Mutterlaugen kristallisiert beim Stehenlassen weiteres Nucleosid aus, das zwar bei der Elementaranalyse richtige Werte liefert, aber optisch nicht einheitlich ist. Die Auftrennung dieses Anomerengemisches (spezif. Drehung von  $-5.0$  bis  $-8.0^\circ$  in Wasser) in die  $\alpha$ - und in die  $\beta$ -Verbindung ist uns nicht gelungen.

Verwendet man bei der Kondensation von I mit IIa an Stelle von Xylol das stark polare Dimethylsulfoxyd<sup>5)</sup> als Reaktionsmedium, so kann die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt werden, da die beiden Reaktionskomponenten in diesem Lösungsmittel gut löslich sind. Das gewonnene IIIa wird wieder, wie oben angegeben, in das Pikrat von IV übergeführt (Ausb. 25–30% d. Th.). Aus IV läßt sich dann das reine 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribosepyranosyl]-adenin (IVb) mit einer Ausbeute von etwa 5% d. Th. isolieren.

Das Nucleosid IV stellten wir auch aus 6-Chlor-purin-quecksilberchlorid<sup>14)</sup> (IIb) und dem Chlor-acyl-zucker I dar. Beim Erhitzen der beiden Verbindungen in Xylol<sup>15)</sup>

<sup>13)</sup> J. J. FOX und I. WEMPEN, *Advances Carbohydrate Chem.* **14**, 336 [1959].

<sup>14)</sup> B. R. BAKER, K. HEWSON, H. J. THOMAS und J. A. JOHNSON, *J. org. Chemistry* **22**, 954 [1957].

<sup>15)</sup> Wir führten die Kondensation auch in Acetonitril durch. Überraschenderweise ist hier aber die Ausb. geringer, der größte Teil des eingesetzten Purinsalzes IIb wird unverändert zurückgewonnen.

empfehlte es sich, Cadmiumcarbonat oder ein anderes schwer lösliches Carbonat hinzuzusetzen, damit kein freier Chlorwasserstoff auftreten kann. Andernfalls muß man damit rechnen, daß der Ansatz vollkommen verkohlt. Bei der Kondensation entsteht zunächst das 6-Chlor-9-[3'.4'-di-*p*-toluyl-2'-desoxy-D-ribosepyranosyl]-purin (IIIb). Beim Erhitzen der Verbindung mit einer gesätt. Lösung von Ammoniak in Äthanol im Autoklaven findet ein Austausch des Chloratoms gegen eine Aminogruppe und eine Abspaltung der beiden Toluylreste statt. Das dabei entstandene Nucleosid IV wird als Pikrat mit einer Ausb. von 30% d. Th. ausgefällt. Das aus dem Pikrat durch Behandeln mit „Dowex 2“ erhaltene freie Nucleosid IV besteht wieder aus einem Gemisch der  $\alpha$ - (IVa) und der  $\beta$ -Verbindung (IVb) und ist mit Spuren von Adenin verunreinigt. Aus dem Gemisch wird das reine 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribosepyranosyl]-adenin (IVb) mit einer Ausb. von 4.6% d. Th. gewonnen.

Wir versuchten auch, das Nucleosid IV aus 2.8-Dichlor-adenin und 1-Chlor-3.4-di-*p*-toluyl-2-desoxy-D-ribose in Analogie zur Synthese des 9-[2'-Desoxy-D-ribofuranosyl]-adenins nach H. VENNERT<sup>7)</sup> darzustellen. An Stelle von 2.8-Dichlor-adenin-silber verwendeten wir jedoch das 2.8-Dichlor-adenin-quecksilberchlorid<sup>11)</sup>, da die Quecksilbersalze allgemein bessere Ergebnisse liefern<sup>11)</sup>. Bei der in kochendem Xylol durchgeführten Kondensation bildet sich nur wenig 6-Amino-2.8-dichlor-9-[3'.4'-di-*p*-toluyl-2'-desoxy-D-ribosepyranosyl]-purin, aus dem wir durch Entacylieren mit Ammoniak in Methanol und nachfolgende Hydrierung mit Wasserstoff und Palladium nur Spuren von 9-[2'-Desoxy-D-ribosepyranosyl]-adenin erhielten. Wegen der sehr geringen Ausbeute ist im Versuchsteil auf die Beschreibung dieser Synthese verzichtet worden.

Die oben erwähnte Chromatographie des reinen 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribosepyranosyl]-adenins sowie die des Gemisches aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Verbindung führten wir wegen des hohen Trenneffektes mit der Keilstreifenmethode<sup>16)</sup> durch. Von mehreren ausprobierten Lösungsmittelgemischen zeigte nur *n*-Butanol/Wasser (86:14)<sup>17)</sup> eine deutliche Trennwirkung für die beiden anomeren Nucleoside IV. Die  $\beta$ -Verbindung hat eine geringere Wanderungsgeschwindigkeit als die  $\alpha$ -Verbindung (siehe Versuchsteil).

Nach der Methode von M. PÖHM und R. WEISER<sup>18)</sup> läßt sich zeigen, daß die auf den Chromatogrammen im UV-Licht sichtbaren Flecke *N*-Glykoside der 2-Desoxy-D-ribose sind. Nach dem Besprühen der Chromatogramme mit einer Lösung von Borsäure und Chlorwasserstoff in Methanol und anschließendem Erhitzen auf 100–105° treten die charakteristischen grauen Flecke auf.

Nach Angaben der Literatur<sup>5,19)</sup> besteht die Möglichkeit, daß bei Nucleosidsynthesen aus Halogen-acyl-zuckern und Purinsalzen der Zuckerrest sowohl an das N-Atom 7 als auch an das N-Atom 9 geknüpft werden kann. Durch J. M. GULLAND und Mitarbb.<sup>20,21)</sup> wurde nun gezeigt, daß sich 9- und 7-substituierte Adenine durch ihr UV-Absorptionsspektrum unterscheiden lassen. Während 7-Methyl-adenin<sup>20)</sup> ein Absorptionsmaximum bei 269 m $\mu$  aufweist, besitzen 9-substituierte Adenine<sup>20,21)</sup> ein solches bei 259 bis 260 m $\mu$ .

16) W. MATTHIAS, *Naturwissenschaften* **41**, 17 [1954]; **43**, 351 [1956].

17) R. MARKHAM und J. D. SMITH, *Biochem. J.* **45**, 294 [1949].

18) *Naturwissenschaften* **43**, 582 [1956].

19) G. M. BLACKBURN und A. W. JOHNSON, *J. chem. Soc. [London]* **1960**, 4347.

20) J. M. GULLAND und E. R. HOLIDAY, *J. chem. Soc. [London]* **1936**, 765.

21) J. M. GULLAND und L. F. STORY, *J. chem. Soc. [London]* **1938**, 259.

Zur Klärung der noch offenen Strukturprobleme wurde daher das UV-Absorptionsspektrum der von uns gewonnenen Nucleoside IVa<sup>22)</sup> und IVb in Abhängigkeit vom pH-Wert<sup>23)</sup> untersucht (siehe Versuchsteil). Wie aus den in der Tab. angegebenen Meßwerten hervorgeht, zeigen die beiden Nucleoside IVa und IVb das für 9-substituierte Adenine charakteristische Absorptionsmaximum bei 259 m $\mu$ , das lediglich im stark sauren Bereich eine geringe Verschiebung zu niedrigeren Wellenlängen erfährt. Zum 7-Methyl-adenin bestehen deutliche Unterschiede. Nach diesen Ergebnissen müssen die Verbindungen IVa und IVb anomere 9-[2'-Desoxy-D-ribosepyranosyl]-adenine sein.

Vergleich der UV-spektroskopischen Daten der 2'-Desoxy-D-ribosepyranosyl-adenine mit anderen Adenin-Derivaten

Verbindung	pH	$\lambda_{\max}$ (m $\mu$ )	$\epsilon_{\max}$ $\times 10^{-3}$	$\lambda_{\min}$ (m $\mu$ )	$\epsilon_{\min}$ $\times 10^{-3}$	$\epsilon_{260}$	$\frac{E_{250}}{E_{260}}$	$\frac{E_{280}}{E_{260}}$
7-Methyl-adenin <sup>20)</sup>	~1.3	269	14.6	236 *)	4.3 *)	11.2 *)	0.62 *)	0.90 *)
	~12.7	269	11.4	—	—	—	—	—
9-Methyl-adenin <sup>20)</sup>	~1.3	260	14.2	227 *)	3.1 *)	14.2	0.75 *)	0.15 *)
	~12.7	260	14.7	—	—	14.7	—	—
Adenosin <sup>24)</sup>	1	257	14.6	230	3.5	14.3	0.84	0.215
	6-12	259.5	14.9	227	2.25	14.9	0.78	0.14
Desoxyadenosin <sup>21)</sup>	~1.3	260	15.9 *)	230 *)	5.4 *)	15.9 *)	0.86 *)	0.16 *)
	H <sub>2</sub> O	260	14.5 *)	230 *)	3.8 *)	14.5 *)	0.79 *)	0.18 *)
	~12.7	260	17.6 *)	228 *)	10.3 *)	17.6 *)	0.91 *)	0.23 *)
Desoxy- $\beta$ -D-ribosepyranosyl-adenin	1	256.5	16.6	226.5	3.1	16.0	0.88	0.22
	H <sub>2</sub> O	259	16.0	225.5	2.9	15.8	0.82	0.18
	13	259.5	16.4	225	2.3	16.4	0.79	0.15
Desoxy- $\alpha$ -D-ribosepyranosyl-adenin	1	257.5	—	225	—	—	0.81	0.20
	H <sub>2</sub> O	259	—	226.5	—	—	0.78	0.25
	13	259	—	231	—	—	0.83	0.24

\*) Die Zahlenwerte wurden aus den in der Literatur angegebenen Kurven ermittelt.

<sup>22)</sup> Da IVa durch fraktionierte Kristallisation nicht rein erhalten werden konnte, wurde die Verbindung nach der chromatographischen Abtrennung aus dem Papier extrahiert und die so erhaltene Lösung für die Messung des UV-Absorptionsspektrums benutzt.

<sup>23)</sup> Es ist allgemein von Bedeutung, daß das Absorptionsspektrum bei verschiedenen pH-Werten gemessen wird; erst die Übereinstimmung der Spektren bei verschiedenem pH bietet die Gewähr für das Vorliegen gleicher Struktur. Die Außerachtlassung dieser Regel hat gelegentlich zu falschen Schlüssen geführt, wie erst kürzlich am Beispiel der Ribosylharnsäure gezeigt wurde. Vergleiche hierzu H. S. FORREST, D. HATFIELD und J. M. LAGOWSKI, J. chem. Soc. [London] 1961, 963.

<sup>24)</sup> E. CHARGAFF und J. N. DAVIDSON, The Nucleic Acids, Vol. I, SS. 508, 510, Academic Press Inc., New York 1955.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl]-adenin (IVb)

## 1. Aus 6-Benzamino-purin-quecksilberchlorid (IIa)

a) In Xylol: 4.74 g (0.01 Mol) IIa<sup>11)</sup> werden in einem Mörser mit Xylol zu einem Brei verrieben, mit 250 ccm Xylol in einen Dreihalskolben gespült und durch Abdestillieren von etwa  $\frac{1}{3}$  des Lösungsmittels azeotrop getrocknet. Dann gibt man eine Lösung von 3.89 g (0.01 Mol) 1-Chlor-3.4-di-p-toluy-2-desoxy-D-ribose<sup>10)</sup> (I) in wenig Xylol hinzu, erhitzt unter kräftigem Rühren 5 Stdn. in einem Ölbad auf 130–140°, filtriert dann heiß und dampft das Filtrat i. Vak. bei 60° ein. Der Filterrückstand und der Eindampfrückstand werden fünfmal mit je 25 ccm warmem Chloroform extrahiert<sup>25)</sup>, die vereinigten Extrakte mit wäbr. Lösungen von Kaliumjodid (10-proz.) und Natriumhydrogencarbonat sowie mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. bei 40° Badtemp. eingedampft. Den Rückstand löst man unter schwachem Erwärmen in 25 ccm Benzol, filtriert das nach kurzer Zeit auskristallisierte Benzamino-purin (0.21 g) ab und dampft i. Vak. zu einem gelbbraunen Sirup (4.42 g) ein, der aus rohem 6-Benzamino-9-[3'.4'-di-p-toluy-2'-desoxy-D-ribofuranosyl]-purin (IIIa) besteht.

IIIa löst man in 50 ccm absol. Methanol, fügt 8 ccm *n* Ba(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in Methanol hinzu, läßt 8 Stdn. bei 25° stehen, erhitzt anschließend 15 Min. unter Rückfluß, neutralisiert nach dem Abkühlen unter kräftigem Rühren vorsichtig mit *n*/<sub>10</sub> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, fügt etwas Bariumcarbonat hinzu, filtriert über Kieselgur, dampft das Filtrat i. Vak. ein, bis kein Methanol mehr übergeht, extrahiert die zurückbleibende wäbr. Lösung zweimal mit je 25 ccm Chloroform, um das gebildete Methyltoluat zu entfernen, schüttelt die wäbr. Lösung mit Aktivkohle, filtriert und dampft das farblose Filtrat i. Vak. zur Trockne ein. Der Rückstand wird in 10 ccm Methanol gelöst und mit 10 ccm einer 20-proz. Lösung von Pikrinsäure in Methanol versetzt. Es fällt sofort ein voluminöser, gelber Niederschlag aus. Man läßt 2 Stdn. bei 0° stehen, filtriert, wäscht mit wenig kaltem Wasser und mit Methanol nach und trocknet i. Vak. bei 64° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Es werden 1.18 g (25% d. Th.) IV-Pikrat erhalten. Dieses schlämmt man in 100 ccm warmem (etwa 50°) Wasser auf, versetzt sofort mit 4.0 g „Dowex 2“ (Carbonatform)<sup>26)</sup>, rührt etwa 1–2 Stdn. bei 20° bis zur völligen Entfärbung der Lösung, filtriert, schüttelt das Filtrat mit Aktivkohle, filtriert erneut, dampft das Filtrat i. Vak. zu einem Sirup ein und trocknet diesen i. Vak. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Man erhält 0.45 g (18% d. Th.) rohes, sirupöses Nucleosid IV, in dem sich chromatographisch nur Spuren von Adenin nachweisen lassen.

Das rohe Nucleosid IV wird unter Erwärmen in 25 ccm absol. Methanol gelöst. Beim Anreiben fallen sofort Kristalle aus, die man von der noch warmen Lösung abfiltriert und aus wenig Wasser umkristallisiert<sup>27)</sup>. Nach dem Trocknen bei 64° und 0.1 Torr über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> erhält man 0.11 g (4.5% d. Th.) chromatographisch reines 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl]-adenin (IVb) in Prismen, Schmp. 262–264°,  $[\alpha]_D^{20}$ : –17.8° (*c* = 0.58, in Wasser).

b) In Dimethylsulfoxyd: 4.74 g (0.01 Mol) IIa werden in 100 ccm frisch destilliertem Dimethylsulfoxyd gelöst. Die Lösung wird durch Abdestillieren von 250 ccm hinzugefügtem

<sup>25)</sup> Die in Chloroform unlöslichen Anteile (2.65 g) bestehen aus nicht umgesetztem 6-Benzamino-purin-quecksilberchlorid.

<sup>26)</sup> E. J. REIST, R. R. SPENCER und B. R. BAKER, J. org. Chemistry 23, 1753 [1958].

<sup>27)</sup> Beim Abkühlen der Mutterlauge kristallisiert weiteres Nucleosid IV aus. Chromatographische Untersuchungen zeigen, daß es aus einem Gemisch der  $\alpha$ - (IVa) und  $\beta$ -Verbindung (IVb) besteht und als Verunreinigung Spuren von Adenin enthält. Es ist uns nicht gelungen, aus dem Gemisch das reine 9-[2'-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl]-adenin in präparativer Menge zu isolieren.

Benzol azeotrop getrocknet und nach dem Erkalten mit 3.89 g (0.01 Mol) *I* versetzt. In einem gut verschlossenen Kolben läßt man 24 Stdn. bei 20° stehen, filtriert dann über Kieselgur, versetzt das Filtrat unter Kühlen mit einem Eisbad und unter kräftigem Rühren mit 300 ccm einer Natriumhydrogencarbonatlösung (hergestellt aus gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser im Verhältnis 1 : 4). Der ausgefallene voluminöse Niederschlag wird abzentrifugiert, wiederholt mit Wasser gewaschen, in der Trockenpistole getrocknet und viermal mit je 50 ccm heißem Chloroform extrahiert. Der unlösliche Teil (3.44 g) besteht aus nicht umgesetztem *IIa*. Die vereinigten Chloroformextrakte werden dann weiter behandelt, wie unter a) beschrieben. Man erhält 1.01 g (21% d. Th.) *IV*-Pikrat, daraus 0.52 g (21% d. Th.) rohes Nucleosid *IV*, daraus 0.115 g (4.6% d. Th.) papierchromatographisch reines 9-[2'-Desoxy-β-D-ribosepyranosyl]-adenin mit den unter a) angegebenen Eigenschaften.

2. Aus 6-Chlor-purin-quecksilberchlorid (*IIb*) in Xylol: 3.90 g (0.01 Mol) *IIb* und 2.0 g Cadmiumcarbonat werden mit 100 ccm Xylol versetzt und durch Abdestillieren von etwa 25 ccm Xylol azeotrop getrocknet. Dann gibt man eine Lösung von 3.89 g (0.01 Mol) *I* in 25 ccm Xylol hinzu, erhitzt unter kräftigem Rühren 4 Stdn. in einem Ölbad auf 140°, filtriert heiß, dampft das Filtrat i. Vak. zur Trockne ein, extrahiert den Filtrerrückstand und den Eindampfrückstand viermal mit je 50 ccm heißem Chloroform, wäscht die vereinigten Extrakte mit Lösungen von Kaliumjodid und Natriumhydrogencarbonat sowie mit Wasser, trocknet über Natriumsulfat und dampft i. Vak. zu einem Sirup (3.85 g) ein, der aus rohem *IIIb* besteht.

Den Sirup löst man in 20 ccm absol. Äthanol, gibt 100 ccm einer bei 0° gesätt. Lösung von Ammoniak in absol. Äthanol hinzu, leitet unter Kühlen mit einer Eis/Kochsalz-Mischung bis zur Sättigung trockenes Ammoniak ein, erhitzt im Autoklaven 3 Stdn. auf 100° und 7 Stdn. auf 115°, dampft i. Vak. ein, nimmt den Rückstand in 25 ccm Wasser und 25 ccm Chloroform auf, schüttelt kräftig durch und trennt die beiden Schichten. Die wäßr. Phase wird noch einmal zum restlosen Entfernen des Toluylsäure-äthylesters mit Chloroform geschüttelt, dann mit Aktivkohle entfärbt, filtriert und i. Vak. eingedampft. Aus dem zurückbleibenden rohen Nucleosid *IV* erhält man, wie unter 1a) beschrieben, 1.43 g (30% d. Th.) Pikrat, daraus 0.115 g (4.6% d. Th.) reines 9-[2'-Desoxy-β-D-ribosepyranosyl]-adenin mit den unter 1a) angegebenen Eigenschaften.

$C_{10}H_{13}N_5O_3$  (251.2) Ber. C 47.80 H 5.22 N 27.87 Gef. C 47.81 H 5.37 N 27.61

*Papierchromatographie der anomeren Nucleoside (IVa, b)*: Die Chromatographie wird bei 20° mit dem Papier von „Schleicher & Schüll 2043 bmgI“ und dem Lösungsmittelgemisch *n*-Butanol/Wasser (86:14)<sup>17)</sup> nach der Keilstreifenmethode<sup>16)</sup> durchgeführt. Die Lage der Flecke wird mit Hilfe der Analysenlampe HNU 6<sup>28)</sup> unter Vorschalten eines Filters UG 5<sup>29)</sup> festgestellt. Die gefundenen  $R_F$ - und  $R_{Ad}$ -Werte<sup>30)</sup> zeigt die folgende Zusammenstellung:

	$R_F$ -Wert	$R_{Ad}$ -Wert <sup>30)</sup>
9-[2'-Desoxy-α-D-ribosepyranosyl]-adenin	0.31	0.70
9-[2'-Desoxy-β-D-ribosepyranosyl]-adenin	0.27	0.60
Adenin	0.44	1

Für den Nachweis der 2-Desoxy-D-ribose auf den von den Nucleosiden *IVa* und *IVb* gegebenen Flecken wird das getrocknete Chromatogramm mit 90-proz. Methanol, das 1% Borsäure und 1% Chlorwasserstoff enthält, besprüht und anschließend 2 Min. im Trockenschrank auf 100–105° erhitzt. Es treten dabei graue Flecke auf<sup>18)</sup>.

<sup>28)</sup> VEB Berliner Glühlampenwerk.

<sup>29)</sup> VEB Jenaer Glaswerk Schott & Gen.

<sup>30)</sup>  $R_{Ad}$  = Wanderungsgeschwindigkeit der Verbindung, bezogen auf die von Adenin.

Die UV-Absorptionsspektren der Nucleoside IVa und IVb wurden mit dem Beckman-Spektralphotometer Modell DU 4700 in 10-mm-Quarzküvetten von etwa 4 ccm Inhalt bei 20° gemessen. Die Messungen erfolgten im Bereich 290 bis 210 m $\mu$ , falls die verwendete Pufferlösung eine Messung bei den kurzen Wellenlängen noch gestattete. Als Pufferlösungen wurden verwendet:  $n/_{10}$  HCl (pH 1); destilliertes Wasser (pH 5.4) und  $n/_{10}$  NaOH (pH 13). Die Ergebnisse sind in der Tab., S. 1869, wiedergegeben. Ferner wurden Messungen bei pH 3.0 (Citronensäure/Dinatriumhydrogenphosphat<sup>31)</sup>) sowie pH 10.0 (Glycin/Natronlauge<sup>31)</sup>) durchgeführt. Da die Meßergebnisse jedoch von den übrigen Werten nicht abweichen, wurde auf ihre Wiedergabe in der Tab. verzichtet.

Das 9-[2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribopyranosyl]-adenin wurde als papierchromatographisch reine, kristallisierte Substanz zur Untersuchung eingesetzt, so daß der molare Extinktionskoeffizient bestimmt werden konnte. Demgegenüber wurde das 9-[2'-Desoxy- $\alpha$ -D-ribopyranosyl]-adenin, dessen Reindarstellung nicht gelang, nach papierchromatographischer Trennung direkt aus dem Chromatogramm mit der entsprechenden Pufferlösung extrahiert und die Extinktion im UV-Licht gemessen.

<sup>31)</sup> H. M. RAUEN, Biochemisches Taschenbuch, S. 649, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956.