

Frieder W. Lichtenthaler und Hans Peter Albrecht

Nitromethan-Kondensation mit Dialdehyden, V¹⁾

Hypoxanthin- und Uracil-Nucleoside der 3-Nitro- und 3-Amino-3-desoxy-gluco- pyranose

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt

(Eingegangen am 19. Juli 1965)

Die Reaktionsfolge Perjodatodoxydation → Nitromethan-Cyclisierung führt ausgehend von Inosin und Uridin zu einem Gemisch von 3'-Nitro-3'-desoxy-hexopyranosyl-hypoxanthin- bzw. -uracil-Isomeren. Durch fraktionierte Kristallisation lassen sich jeweils die *gluco*-Isomeren (3 bzw. 10) abtrennen. Katalytische Hydrierung liefert die entsprechenden 3'-Amino-3'-desoxy-nucleoside 6 bzw. 11, die als Hydrochlorid, *N*-Acetat und Tetraacetat charakterisiert wurden. Die Konfigurationsermittlung erfolgte auf Grund der NMR-Spektren der *N*- bzw. Tetraacetate in CDCl₃, D₂O und DMSO-d₆ sowie durch saure Hydrolyse zu 3-Amino-3-desoxy-glucose.

Die chemische Synthese von Nucleosiden, die sich von Aminozuckern ableiten, hat auf Grund der carcinostatistischen und trypanociden Eigenschaften einiger Vertreter dieser Klasse²⁾ beachtliches Interesse gefunden, wobei sich die Untersuchungen im wesentlichen auf die Synthese von Aminopentosyl-purin³⁾ und -pyrimidin⁴⁾-Derivaten konzentrierte. In der Reihe der Aminohexosyl-Verbindungen dagegen sind nur einige der von D-Glucosamin⁵⁻¹⁰⁾ und D-Allosamin⁶⁾ abgeleiteten Nucleoside bekannt geworden.

- 1) IV. Mitteil.: F. W. Lichtenthaler und H. K. Yahya, *Tetrahedron Letters* [London] **1965**, 1805.
- 2) P. L. Bennet, S. L. Halliday, J. J. Oleson und J. H. Williams, *Antibiotics Annual 1954 bis 1955*, S. 766, Medical Encyclopedia Inc., New York, N. Y. **1954**; R. I. Hewitt, A. R. Gumble, W. S. Wallace und J. H. Williams, *Antibiotics and Chemotherapy* **4**, 1222 (1954); B. R. Baker, J. P. Joseph und J. H. Williams, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1 (1955); N. N. Gerber und H. H. Lechevalier, *J. org. Chemistry* **27**, 1731 (1962).
- 3) J. A. Montgomery und H. J. Thomas, *Advances Carbohydrate Chem.* **17**, 323 (1962).
- 4) H. M. Kissman und M. J. Weiss, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 2575 (1958); J. F. Codington, R. Fecher und J. J. Fox, *J. org. Chemistry* **27**, 163 (1962); N. Miller und J. J. Fox, ebenda **29**, 1772 (1964).
- 5) B. R. Baker, J. P. Joseph, R. E. Schaub und J. H. Williams, *J. org. Chemistry* **19**, 1786 (1954).
- 6) F. J. McEvoy, M. J. Weiss und B. R. Baker, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 205 (1960).
- 7) T. Sugawa, Y. Kuwada, K. Imai, M. Morinaga, K. Kajiwara und T. Tanaka, *Takeda Kenkyusho Nempo* **20**, 7 (1961), *C. A.* **58**, 3497 (1963).
- 8) G. Schramm, H. Grötsch und W. Pollmann, *Angew. Chem.* **74**, 53 (1962); *Angew. Chem. internat. Edit.* **1**, 1 (1962); *Farbwerke Hoechst AG*, *Franz. Pat.* 1324011, *C. A.* **59**, 11648 (1963).
- 9) C. L. Stevens und K. Nagarajan, *J. med. pharmac. Chem.* **5**, 1124 (1962), *C. A.* **58**, 4640 (1963).
- 10) M. L. Wolfrom, H. G. Garg und D. Horton, *J. org. Chemistry* **30**, 1556 (1965).

Durch Übertragung der Reaktionsfolge Perjodatoxydation \rightarrow Nitromethan-Cyclisierung \rightarrow Hydrierung¹¹⁾ auf die gut zugänglichen Ribonucleoside ergab sich nun die Möglichkeit, auf einfachem Wege in die Reihe der 3'-Amino-hexosyl-purine bzw. -pyrimidine zu gelangen. Untersuchungen mit diesem Ziel wurden unabhängig von uns¹²⁾ auch von Fox und Mitarbb.¹³⁾ begonnen. Bisher wurde diese Reaktion an Uridin^{12, 13)}, Inosin¹³⁾, Adenosin^{13, 14)}, Xanthosin und Glucopyranosyl-thymin¹⁵⁾ durchgeführt. Vorliegende Arbeit berichtet nun im Detail über die aus Inosin (1) und Uridin (13) erhaltenen 3'-Nitro- bzw. 3'-Amino-nucleoside.

1. Nitromethan-Cyclisierung von „Inosindialdehyd“

Der durch Oxydation von Inosin (1) mit Natriummetaperjodat erhaltene „Inosindialdehyd“ (2)^{16, 17)} ergibt bei Cyclisierung mit Nitromethan/Natriummethylat in absolutem Methanol (3 Stdn., 25°) ein 3'-Nitro-hexosyl-hypoxanthin-Gemisch, das auf Grund dünnschicht- und papierchromatographischer Ergebnisse aus zwei Isomeren besteht. Durch wiederholte Umkristallisation aus Wasser läßt sich ein Isomeres, 9-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (3), in reiner Form vom Schmp. 202–205° und $[\alpha]_D^{25}$: -4° in 15-proz. Ausbeute (bez. auf 1) gewinnen.

Katalytische Hydrierung über 10-proz. Palladium/Tierkohle in absolutem Methanol in Gegenwart von Essigsäure¹⁸⁾ führt zu 9-[3-Amino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (6). Acetylierung von 6 mit Pyridin/Acetanhydrid ergibt das Tetraacetat (5), aus dem sich durch Entacetylierung mit ammoniakgesättigtem Methanol das N-Acetat (4) darstellen läßt.

Die D-*gluco*-Konfiguration von 3 und dessen Folgeprodukten 4–6 ließ sich durch folgende Ergebnisse sicherstellen:

1. Das erhaltene, chromatographisch reine Aminohexosyl-hypoxanthin konnte durch saure Hydrolyse in 3-Amino-glucose übergeführt werden, die in Form ihres kristallinen Pentaacetats (7) isoliert wurde. Dieses war nach Schmp., Drehwert und IR-Spektrum mit authentischer Pentaacetyl-3-amino-3-desoxy- β -D-glucopyranose¹⁹⁾ identisch.

¹¹⁾ F. W. Lichtenthaler, *Angew. Chem.* **76**, 84 (1964); *Angew. Chem. internat. Edit.* **3**, 211 (1964).

¹²⁾ Vorläufige Mitteil.: F. W. Lichtenthaler, H. P. Albrecht und G. Olfemann, *Angew. Chem.* **77**, 131 (1965); *Angew. Chem. internat. Edit.* **4**, 147 (1965).

¹³⁾ Vorläufige Mitteil.: K. A. Watanabe und J. J. Fox, *Chem. pharmac. Bull.* [Tokyo] **12**, 975 (1964), *C. A.* **61**, 14765 (1964); K. A. Watanabe, J. Beranek, H. A. Friedman und J. J. Fox, *J. org. Chemistry* **30**, 2735 (1965).

¹⁴⁾ J. Beranek, H. A. Friedman, K. A. Watanabe und J. J. Fox, *J. heterocyclic Chem.* **2**, 188 (1965).

¹⁵⁾ F. W. Lichtenthaler, H. P. Albrecht, G. Olfemann und J. Yoshimura, *Angew. Chem.* **77**, 731 (1965).

¹⁶⁾ Die Verbindungen 2 und 9 liegen in Lösung nicht in der offenkettigen Dialdehyd-Form vor, sondern besitzen entweder Hemiacetal- oder Hemialdal-Struktur [vgl. R. D. Guthrie, *Advances Carbohydrate Chem.* **16**, 124 (1961)].

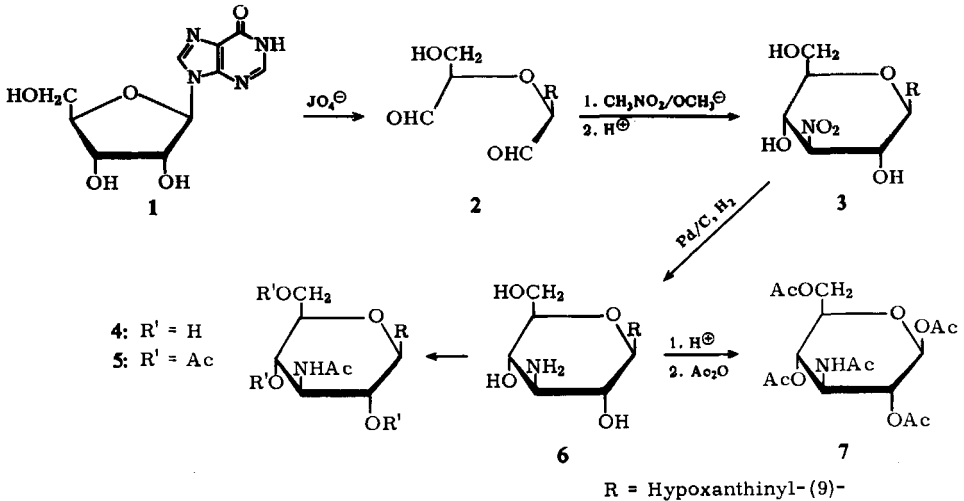
¹⁷⁾ Nach der für „Zuckerdialdehyde“ üblichen Nomenklatur [E. E. Jackson und C. S. Hudson, *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 994 (1937)] wäre 2 ein L'-[Hypoxanthinyl-(9)]-D-hydroxymethyl-diglykolaldehyd, 9 entsprechend L'-[Uracilyl-(3)]-D-hydroxymethyl-diglykolaldehyd.

¹⁸⁾ Die Hydrierung wurde in saurem Medium durchgeführt, um eine mögliche Isomerisierung von 3 durch bereits entstandenes Amin zu verhindern.

¹⁹⁾ M. J. Cron, O. B. Fardig, D. J. Johnson, H. Schmitz, D. F. Whitehead, I. R. Hooper und R. U. Lemieux, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 2342 (1958); M. J. Cron, D. L. Evans, F. M. Palermi, D. F. Whitehead, I. R. Hooper, P. Chu und R. U. Lemieux, ebenda **80**, 4741 (1958); G. Zanetti, Dissertat., Eidgen. Techn. Hochschule Zürich 1962.

2. Die NMR-Daten²⁰⁾ des Tetraacetats **5** sowie des *N*-Acetats **4**, erhalten in D₂O und Dimethylsulfoxid-d₆, sind mit der *D*-*gluco*-Konfiguration im Einklang.

In D₂O wurde für das anomere Proton von **4** und **5** jeweils ein Dublett bei 4,25 und 3,93 τ mit $J_{1',2'}$ = 9,5 Hz erhalten, in DMSO-d₆ für H an C-1' von **5** ein Dublett bei 4,02 τ mit $J_{1',2'}$ = 8 Hz. Die Größe der Kopplungskonstanten^{21, 22)} beweist eine diaxiale Orientierung der Protonen an C-1' und C-2' und somit das Vorliegen einer äquatorialen OH- bzw. OAc-Gruppe an C-2'.



Weitere Belege der *gluco*-Konfiguration von **5** lassen sich aus der Signallage der Acetylgruppen im 8τ -Gebiet ableiten.

NMR-Spektren von Cyclanol- und Zucker-acetaten sind bisher fast ausschließlich in Chloroform aufgenommen worden, so daß nur für dieses Lösungsmittel zuverlässige Absorptionsbereiche für axiale bzw. äquatoriale Acetoxy- und Acetaminogruppen vorliegen²²⁻²⁴⁾. So ist z. B. eine eindeutige Zuordnung der 8τ -Signale von Pentaacetyl- α -D-glucosamin (**8**)²⁵⁾

²⁰⁾ Alle Protonenresonanzspektren wurden mit einem Varian-A-60-Spektrometer aufgenommen. Für die Spektren in CDCl_3 und DMSO-d_6 wurde Tetramethylsilan, in D_2O Natrium-3-trimethylsilyl-propansulfonat als innerer Standard verwendet.

²¹⁾ R. U. Lemieux, R. K. Kullnig, H. J. Bernstein und W. G. Schneider, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 6098 (1958); J. A. Pople, W. G. Schneider und H. J. Bernstein, *High Resolution Nuclear Magnetic Resonance*, S. 395, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, N. Y. 1959.

²²⁾ L. D. Hall, *Advances Carbohydrate Chem.* **19**, 65 (1964).

²³⁾ F. W. Lichtenthaler, *Chem. Ber.* **96**, 2047 (1963).

²⁴⁾ E. L. Eliel, N. L. Allinger, S. J. Angyal und G. A. Morrison, *Conformational Analysis*, S. 398 ff., Interscience Publishers, New York 1965.

²⁵⁾ Horton²⁶⁾ hat im CDCl_3 -Spektrum von **8** sowie dessen β -Epimeren jeweils das Signal bei 8,09 τ der C-6-Acetoxygruppe, das bei 7,93 τ der äquatorialen Acetaminogruppe zugeordnet. Nach unseren Ergebnissen sind diese Zuordnungen umzukehren. Daß die α - und β -Epimeren der Tetra-O-acetyl-2-[2,4-dinitro-anilino]-2-desoxy-D-glucopyranose Signale bei 8,09 bzw. 8,12 τ aufweisen²⁶⁾, ist nicht auf die C-6-Acetoxygruppe, sondern auf die an C-3 zurückzuführen, die durch den benachbarten, sterisch großen 2,4-Dinitro-anilino-Rest anders abgeschirmt ist.

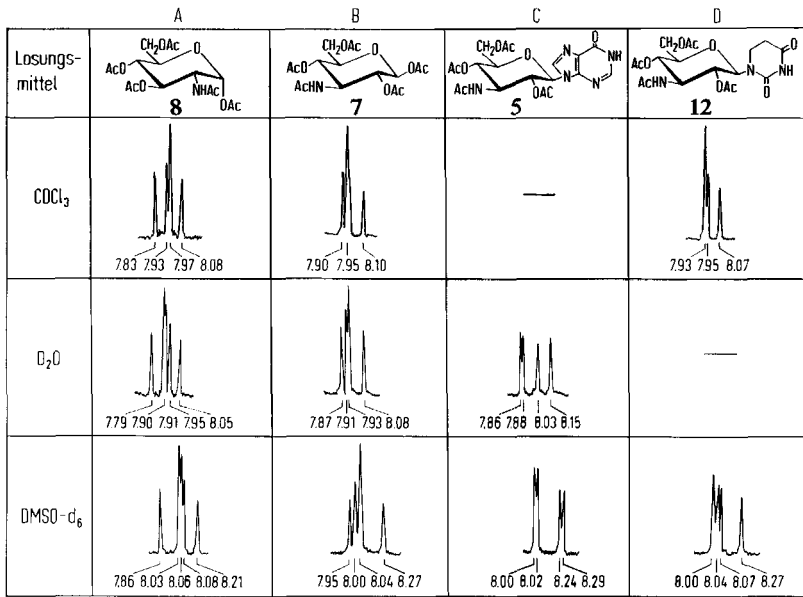
²⁶⁾ D. Horton, *J. org. Chemistry* **29**, 1776 (1964).

Signallage von Acetylprotonen in CDCl₃, D₂O und DMSO-d₆ *)

	CDCl ₃		D ₂ O		DMSO-d ₆	
	axiale OAc	äquat. NHAc	axiale OAc	äquat. OAc	axiale OAc	äquat. NHAc
Pentaacetyl- α -D-glucosamin (8)	7.83 (3)	8.08 (3)	7.79 (3)	7.90 (3)	7.86 (3)	8.03 (3)
		7.97 (6)		7.91 (3)		8.06 (3)
3-Acetamino-tetra-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranose (7)	—	8.10 (3)	—	7.87 (3)	—	7.95 (3)
		7.95 (9)		7.91 (3)		8.00 (3)
9-[3-Acetamino-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (5)	—	—	—	7.86 (3)	—	8.04 (6)
				7.88 (3)		8.00 (3)
3-[3-Acetamino-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-4,5-dihydro-uracil (12)	—	8.07 (3)	—	8.03 (3)	—	8.24 (3)
		7.95 (3)		—		8.00 (3)
						8.04 (3)
						8.07 (3)

*) In Klammern jeweils die Anzahl der Protonen des Signals.

und Pentaacetyl-3-amino-3-desoxy- β -D-glucopyranose möglich (vgl. Tab.): 7.83 τ (axiale OAc), 7.93–7.97 τ (äquatoriale OAc, C-6-OAc) und 8.08 bzw. 8.10 τ für die äquatoriale Acetaminogruppe.



[339765-1]

Protonenresonanzspektren²⁰⁾ in CDCl₃, D₂O und Dimethylsulfoxid-d₆ von: A 2-Acetaminotetra-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranose (8); B 3-Acetaminotetra-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranose (7); C 9-[3-Acetamino-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (5); D 3-[3-Acetamino-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-4,5-dihydro-uracil (12)

Auf Grund der Unlöslichkeit des Tetraacetats **5** in CDCl₃ wurden NMR-Spektren in D₂O und Dimethylsulfoxid-d₆ aufgenommen, wobei im 8 τ -Gebiet jeweils vier Signale (Abbild. C) erhalten wurden. Die Zuordnung ergab sich durch Vergleich mit der Lage der Acetylsignale analoger Verbindungen (vgl. Tab.).

In D₂O werden für Pentaacetyl- α -D-glucosamin (8) fünf Signale gleicher Intensität (Abbild. A), für Pentaacetyl-3-amino-3-desoxy- β -D-glucopyranose (7) vier Signale im Intensitätsverhältnis 1:1:2:1 erhalten (Abbild. B). Im Vergleich zu den CDCl₃-Spektren sind die Signalgruppen besser aufgespalten und um 0.03–0.04 ppm nach niedrigeren τ -Werten verschoben²⁷⁾. Die Zuordnung läßt sich unter Berücksichtigung dieser Verschiebung analog der in CDCl₃ vornehmen: 7.79 τ (axiale Acetoxygruppe), 7.87–7.95 τ (äquatoriale Acetoxygruppen sowie die primäre an C-6) und 8.05 bzw. 8.08 τ (äquatoriale Acetaminogruppe).

²⁷⁾ Unter der Annahme, daß die für Chloroform erhaltenen Absorptionsbereiche auf D₂O übertragbar sind, wäre das D₂O-Spektrum des Tetraacetats **5** (Abbild. C) so zu interpretieren, daß zwei axiale Acetoxygruppen (7.86 und 7.88 τ) neben der primären an C-6' (8.03 τ), sowie eine äquatoriale Acetaminogruppe (8.15 τ) vorliegen, ein Analogieschluß, der uns zuerst dazu führte, *tal*-Konfiguration für **5** anzunehmen¹²⁾.

Die für das Tetraacetat **5** erhaltenen Signale (Abbild. C) lassen sich somit zwei äquatorialen und der C-6'-Acetoxygruppe (7.86, 7.88 und 8.03 τ) zuordnen sowie einer äquatorialen Acetaminogruppe (8.15 τ), wie es die *gluco*-Konfiguration erfordert.

In Dimethylsulfoxid- d_6 ist, wie sich durch Vergleich der für **7** und **8** erhaltenen NMR-Daten (Abbild. A bzw. B) mit den in Chloroform und D_2O gefundenen ergibt, der Absorptionsbereich nicht nur um etwa 0.15 ppm nach höheren τ -Werten verschoben, sondern auch wesentlich breiter.

Pentaacetyl- α -D-glucosamin (**8**) zeigt z. B. in Deuteriochloroform bzw. D_2O einen Absorptionsbereich der Acetylsignale von 0.25 bzw. 0.26 ppm, in DMSO- d_6 dagegen 0.35 ppm.

Wie aus den NMR-Spektren einer Anzahl repräsentativer Aminocyclanol- und Aminozyucker-acetaten hervorgeht, lassen sich folgende Signalbereiche festlegen²⁸⁾: axiale Acetoxygruppen 7.86–7.91 τ , äquatoriale 7.95–8.11 τ ; äquatoriale Acetaminogruppen 8.19–8.30 τ .

Aus dem DMSO- d_6 -Spektrum des Tetraacetats geht somit eindeutig hervor, daß keine axiale Acetoxygruppe vorliegt, sondern neben der äquatorialen Acetaminogruppe (8.29 τ) die C-6'- und zwei äquatoriale Acetoxygruppen. Das bei relativ hohem τ -Wert absorbierende Signal bei 8.24 τ ist (analog dem in D_2O bei 8.03 τ erhaltenen) auf die äquatoriale C-2'-Acetoxygruppe zurückzuführen, die infolge des großen Restes an C-1' anders abgeschirmt wird als die restlichen Acetylgruppen.

2. Nitromethan-Cyclisierung von „Uridindialdehyd“²⁹⁾

Der durch Perjodatoxydation von Uridin (**13**) leicht darstellbare „Uridindialdehyd“ (**9**)^{16,17,30)} führt bei Kondensation mit Nitromethan/Natriummethylat in Methanol zu einem 3'-Nitro-nucleosid-Gemisch, aus dem auf Grund seiner Schwerlöslichkeit in Wasser ein einheitliches Isomeres, 3-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-gluco-pyranosyl]-uracil (**10**), als Monohydrat in 40-proz. Ausbeute isoliert werden konnte. Durch saure Acetylierung geht **10** glatt in ein Triacetat (**14**) über, bei katalytischer Hydrierung über Platin wird durch gleichzeitige Reduktion der Nitrogruppe und der 4,5-Doppelbindung 3-[3-Amino-3-desoxy- β -D-gluco-pyranosyl]-4,5-dihydro-uracil (**11**) erhalten, das in Form seines Hydrochlorids ($[\alpha]_D^{20}$: $+20^\circ$, Wasser) und seines Tetraacetates (**12**, $[\alpha]_D^{20}$: -7° , Chloroform) charakterisiert wurde.

Den Konfigurationsbeweis für **10** bzw. seine Folgeprodukte lieferten folgende Ergebnisse:

Bei Abspaltung des 4,5-Dihydro-uracil-Restes in **11** durch $4n$ HCl bei 100° und anschließender Acetylierung wird in 20-proz. Ausbeute wieder **7** erhalten.

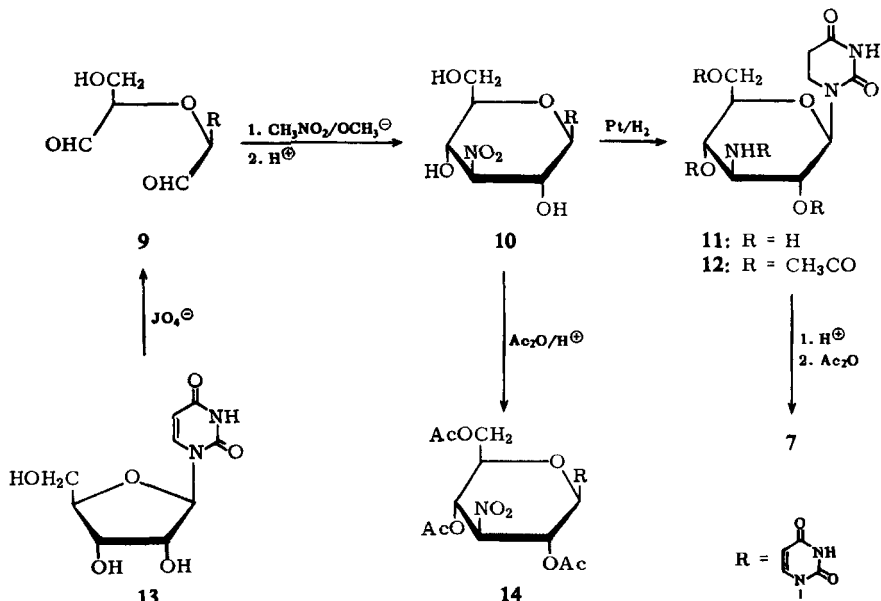
Das NMR-Spektrum des Triacetats **14** in $CDCl_3$ ergab für die Methylprotonen der drei Acetoxygruppen zwei Signale (7.91 und 7.98 τ) im Intensitätsverhältnis 2:1, die eindeutig zwei äquatorial orientierten Acetoxygruppen (7.91 τ) neben der primären an C-6' (7.98 τ) zuzuordnen sind und somit das Vorliegen äquatorialer Substituenten an C-2' und C-4' beweisen. Die Konfiguration an C-3' ergibt sich aus dem NMR-Spektrum des Tetraacetats **12** (Abbild. D): In $CDCl_3$ werden im 8 τ -Gebiet drei Signale der Intensität 2:1:1 erhalten, deren chemische Verschiebungen neben der

²⁸⁾ F. W. Lichtenthaler, H. Leinert und H. P. Albrecht, unveröffentlichte Ergebnisse.

²⁹⁾ H. P. Albrecht, Diplomarb., Techn. Hochschule Darmstadt 1964; vgl. auch l. c.¹²⁾.

³⁰⁾ J. Davoll, B. Lythgoe und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] 1964, 833.

C-6'- (7.95 τ) und zwei äquatorialen Acetoxygruppen (7.93 τ) das Vorliegen einer äquatorialen Acetaminogruppe (8.07 τ) beweisen (vgl. Tab.). In DMSO- d_6 werden vier Signale gleicher Intensität erhalten. Bei Vergleich mit den entsprechenden Signal-



lagen von 7 und 8 in DMSO- d_6 (Abbild. A und B) sowie auf Grund der festgelegten Absorptionsbereiche²⁸⁾ ergibt sich zwangsläufig auch für 12 die *gluco*-Konfiguration: äquatoriale Acetaminogruppe bei 8.27 τ , die C-6'- und zwei äquatoriale Acetoxygruppen bei 8.00, 8.04 und 8.07 τ .

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die großzügige finanzielle Unterstützung dieser Arbeit; Herrn Dr. B. Hampel und Fräulein G. Brohm (E. Merck AG, Darmstadt) sind wir für die Aufnahme der NMR-Spektren zu Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche³¹⁾

D-Glycerinaldehyd-2-[L-(hypoxanthinyl-(9))-formyl-methyläther] („Inosindialdehyd“) (2): Einer mit Eis gekühlten Lösung von 8.56 g Natriummetaperjodat (40.0 mMol) in 200 ccm Wasser wurden unter magnetischem Rühren 10.76 g (40.0 mMol) Inosin (1) zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen und i. Vak. (30° Badtemp.) auf die Hälfte eingedampft. Nach Zusatz von 200 ccm Methanol wurde vom ausgefallenen Natriumjodat abfiltriert, das Filtrat auf 50 ccm eingeeengt, erneut mit 200 ccm Methanol versetzt und wieder filtriert. Nach nochmaliger Wiederholung dieser Operation war die methanolische „Lösung“ jodatifrei. Nach Abdampfen des Methanols blieb 2 als farblose, halbkristalline Masse, die über P₂O₅ getrocknet wurde: Ausb. 12.0 g (noch methanolhaltig); $[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$ ($c = 1.3$ in Wasser)³²⁾.

³¹⁾ Alle Schmelzpunkte wurden auf einem Mikrobloc bestimmt und sind nicht korrigiert.

³²⁾ Die spezifische Drehung wurde in einem gesonderten Ansatz unter der Annahme, daß die Reaktion quantitativ verläuft, bestimmt.

9-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (**3**): 12.0 g **2** in 250 ccm Methanol wurden unter Eiskühlung und magnetischem Rühren mit 2.2 ccm (40 mMol) Nitromethan versetzt und 40 ccm einer *n* NaOCH₃-Lösung zuge tropft. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur 3 Stdn. stehengelassen, mit Essigsäure auf pH 6–7 gebracht, filtriert und i. Vak. (30° Badtemp.) eingedampft. Der zurückbleibende Sirup schied beim Behandeln mit 50 ccm Wasser einen kristallinen Niederschlag ab, der noch blaßgelb gefärbt war. Durch mehrmaliges Aufschlänmen mit wenig Wasser wurde ein fast farbloses Produkt erhalten: 6.0 g (45%, bez. auf **1**). Chromatographisch³³⁾ waren 2 Substanzen nachweisbar (R_F 0.35 und R_F 0.41). Das Isomere mit R_F 0.41 (**3**) ließ sich durch dreimaliges Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle und Kieselgel chromatographisch rein gewinnen: 2.0 g **3** (15%, bez. auf **1**); Schmp. 202–205° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: –4° ($c = 0.4$ in Wasser). Zur Analyse wurde bei 80° i. Hochvak. getrocknet.

UV (Wasser): λ_{max} 247 m μ ($\epsilon = 11\,200$).

C₁₁H₁₃N₅O₇ (327.3) Ber. C 40.37 H 4.00 N 21.40 Gef. C 40.33 H 4.24 N 21.47

Die nach Isolierung von **3** verbliebene Mutterlauge enthielt neben dem Isomeren vom R_F 0.35 noch größere Mengen an **3**.

9-[3 Amino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin-hydrochlorid (6·HCl): 2.0 g (6 mMol) **3** wurden in 600 ccm Methanol über 3.0 g 10-proz. Palladium/Tierkohle unter Zusatz von 0.35 ccm Eisessig¹⁸⁾ bis zur Aufnahme der ber. Menge H₂ (450 ccm) hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen und das Filtrat i. Vak. (40° Badtemp.) bis auf 20 ccm eingeeengt. Nach Zugabe von 6.5 ccm *n* HCl dampfte man unter wiederholtem Nachdampfen mit Wasser zur Trockne ein; der zurückbleibende Sirup wurde beim Behandeln mit absol. Äthanol fest: 1.8 g Rohprodukt (90%); R_{Gm} 0.95³⁴⁾. Nach Aufnahme in wenig Wasser fällte man mit Äthanol aus. Zers. ab 200°; $[\alpha]_D^{20}$: +2° ($c = 0.8$ in Wasser).

UV (Wasser): λ_{max} 249 m μ .

C₁₁H₁₅N₅O₅·HCl (333.8) Ber. C 39.58 H 4.83 Gef. C 39.20 H 5.32

9-[3-Acetamino-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (**5**): 0.5 g **6** (Rohprodukt) wurden mit 25 ccm Pyridin/Acetanhydrid (1:1) bei Raumtemperatur über Nacht stehengelassen. Dann wurde filtriert, i. Hochvak. (30° Badtemp.) abgedampft und der sirupöse Rückstand mit 20 ccm absol. Äthanol versetzt. Nach Abziehen des Lösungsmittels blieb ein fester kristalliner Rückstand³⁵⁾: aus Äthanol 400 mg (50%) **5**; $[\alpha]_D^{20}$: –36° ($c = 1$ in Wasser). Die Verbindung schmilzt unter teilweiser Zers. zwischen 285 und 310°. Zur Analyse wurde bei Raumtemperatur i. Hochvak. getrocknet.

UV (Methanol): λ_{max} 247 m μ ($\epsilon = 11\,300$).

NMR: a) In D₂O²⁰⁾: 1.70 und 1.80 (H an C-2 bzw. C-8); 3.93 (Dublett H an C-1', $J_{1',2'}$ = 9.5 Hz); 7.86 und 7.88 (C-4'- und C-6'-OAc); 8.03 und 8.15 τ (C-2'-OAc und NHAc). b) in DMSO-d₆²⁰⁾: 1.90 und 1.95 (H an C-2 bzw. C-8); 2.06 (NH-Dublett, $J = 9$ Hz); 4.02 (Dublett H an C-1', $J_{1',2'}$ = 8 Hz); 8.00 und 8.02 (C-4'- und C-6'-OAc); 8.24 und 8.29 τ (C-2'-OAc und NHAc).

C₁₉H₂₃N₅O₉ (465.4) Ber. C 49.03 H 4.96 N 15.05 Gef. C 48.96 H 5.07 N 14.89

³³⁾ Chromatographie absteigend auf Papier Schleicher & Schüll 2043 b. Laufmittel Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5; organische Phase). Entwicklung durch UV.

³⁴⁾ Chromatographie absteigend auf Papier Schleicher & Schüll 2043 b. Laufmittel: Pyridin/Eisessig/Wasser (5:5:1:3) mit Pyridin/Eisessig/Wasser (11:40:6) als Bodenflüssigkeit (F. G. Fischer und H. Dörfel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 224 (1955)). Wanderungsgeschwindigkeit R_{Gm} bezogen auf Glucosamin-hydrochlorid. Entwicklung mit Ninhydrin.

³⁵⁾ In einem anderen Versuch mußte der sirupöse Rückstand zuerst über eine Silicagelsäule (Butanol/Wasser (84:16)) gereinigt werden, ehe aus Äthanol Kristallisation eintrat.

9-[3-Acetamino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-hypoxanthin (**4**): 100 mg **5** wurden in 20 ccm ammoniakgesättigtem Methanol 4 Stdn. bei 0° stehengelassen, das Lösungsmittel bei Raumtemperatur i. Vak. entfernt und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert: 60 mg (80%) **4**, Schmp. 298–301° (Zers.). Zur Analyse wurde bei 50° i. Hochvak. getrocknet.

NMR (D_2O)²⁰): 1.80 und 1.90 (H an C-2 bzw. C-8); 4.25 (Dublett H an C-1', $J_{1',2'} = 9.5$ Hz); 7.88 τ (NHAc).

$C_{13}H_{17}N_5O_6$ (339.3) Ber. C 46.01 H 5.05 N 20.64 Gef. C 45.97 H 5.32 N 20.48

Pentaacetyl-3-amino-3-desoxy- β -D-glucopyranose (**7**): 1.0 g **6** in 15 ccm 3*n* HCl wurde 4 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt. Unter wiederholter Zugabe von je 10–15 ccm Wasser wurde i. Vak. eingedampft. Das entstandene Hypoxanthin trennte man auf Grund seiner Schwerlöslichkeit in Wasser ab, engte das Filtrat zur Sirupkonsistenz ein³⁶), versetzte den sirupösen Rückstand mit 30 ccm Pyridin/Acetanhydrid, ließ über Nacht bei Raumtemperatur stehen und dampfte das Lösungsmittel i. Hochvak. (40° Badtemp.) ab. Nach Reinigung über eine Silicagelsäule (Elution mit Chloroform) wurde das Lösungsmittel abgezogen und der gelbliche Sirup in Äthanol aufgenommen. Bei längerem Stehenlassen im Kühlschrank schied sich Nadeln vom Schmp. 204–206° aus; $[\alpha]_D^{20}$: +7° ($c = 0.6$ in Chloroform) (Lit.¹⁹): Schmp. 205–207°, $[\alpha]_D^{20}$: +8°; Ausb. 200 mg (15%³⁷).

*NMR*²⁰): a) In $CDCl_3$: 4.25 (Dublett H an C-1, $J_{1,2} = 8$ Hz); 7.90 (äquat. OAc); 7.95 (2 äquat. OAc und C-6-OAc); 8.10 τ (äquat. NHAc). b) In D_2O : 4.15 (Dublett H an C-1, $J_{1,2} = 8$ Hz); 7.87, 7.91 und 7.93 (3 äquat. OAc); 7.93 C-6-OAc; 8.08 τ (äquat. NHAc). c) In $DMSO-d_6$: 2.15 (Dublett NH, $J = 8$ Hz); 4.24 (Dublett H an C-1, $J_{1,2} = 8$ Hz); 6.00 (CH_2); 7.95, 8.00 und 8.04 (3 äquat. OAc und C-6-OAc); 8.27 τ (äquat. NHAc).

3-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-uracil (**10**): In eine mit Eis gekühlte Lösung von 4.28 g Natriummetaperiodat (20 mMol) in 60 ccm Wasser wurden unter Rühren teilweise 4.88 g (20 mMol) Uridin (**13**) im Verlauf von 15 Min. eingetragen, über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen, dann i. Vak. (40° Badtemp.) auf die Hälfte eingedampft und der methanollösliche „Uridindialdehyd“ (**9**) durch Behandeln mit 50 ccm Methanol bei 0° von den letzten Resten $NaJO_3$ befreit³⁸). Nach Abziehen des Methanols blieb ein gelblicher Sirup: 5.8 g **9** nach Trocknen über P_2O_5 ; $[\alpha]_D^{20}$: +16.8° ($c = 2$ in Wasser) (Lit.³⁰): $[\alpha]_D^{20}$: +16°). Der Sirup wurde in 100 ccm Methanol aufgenommen, mit 1.1 ccm Nitromethan (20 mMol) versetzt, unter Eiskühlung und Rühren 20 ccm einer *n* Natriummethylat-Lösung langsam zugeben und bei Raumtemperatur 2 Stdn. stehengelassen. Die gelbe Lösung brachte man mit 3*n* methanol. HCl vorsichtig auf pH 5–6, dampfte i. Vak. ein, nahm den zurückbleibenden Sirup in 30 ccm absol. Äthanol auf, ließ über Nacht bei 0° stehen, filtrierte vom zurückbleibenden NaCl ab und dampfte i. Vak. zur Trockne. Nach Trocknen über P_2O_5 wurden 5.2 g einer gelblichen, festen Substanz erhalten, die sich bei Zugabe von Wasser zunächst glatt löste, jedoch nach einigen Min. einen Niederschlag abschied. Nach einigen Stdn. wurde abgesaugt, aus Wasser umkristallisiert und i. Hochvak. bei Raumtemperatur getrocknet: 2.5 g farblose Kristalle als Monohydrat vom Schmp. 162–164°; $[\alpha]_D^{20}$: +36° ($c = 0.6$ in Wasser); Ausb. 40% (bez. auf Uridin)³⁹).

$C_{10}H_{13}N_3O_8 \cdot H_2O$ (321.2) Ber. C 37.39 H 4.71 N 13.08 Gef. C 37.42 H 4.86 N 13.28

³⁶) Im Chromatogramm³⁴) ergab sich ein Fleck mit R_{Gm} 1.0 (identisch mit authent. 3-Amino-glucose), der sich mit Ninhydrin und Silbernitrat/NaOH entwickeln ließ. Geringe Spuren an Nebenprodukten, die offenbar sekundär im Verlauf der Hydrolyse entstanden waren, ließen sich entweder nur mit Ninhydrin oder nur mit Silbernitrat/NaOH sichtbar machen.

³⁷) G. Zanetti (Dissertat., Eidgen. Techn. Hochschule Zürich 1962) erhielt beim Abbau des Kanamycins 3-Amino-glucose in Form des Pentaacetats ebenfalls nur in 18-proz. Ausb.

³⁸) Die Ausbeute an $NaJO_3$ war quantitativ.

³⁹) Watanabe und Fox¹³) erhielten die Nitro-Verbindung **10** in wasserfreier Form mit Schmp. 175–176° und $[\alpha]_D^{20}$: +33° in einer Ausb. von 60%.

Nach Trocknen i. Hochvak. bei 110°:

$C_{10}H_{13}N_3O_8 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ (312.2) Ber. C 38.46 H 4.52 N 13.46 Gef. C 38.40 H 4.24 N 13.50

Die Verbindung war chromatographisch rein, $R_F = 0.35$ (Dünnschichtchromatographie an Kieselgel HF₂₅₄, Laufmittel Chloroform/Methanol 6:1, Sichtbarmachung durch UV). In der Mutterlauge waren neben **10** noch mindestens zwei weitere Substanzen chromatographisch nachweisbar.

3-[3-Nitro-tri-O-acetyl-3-desoxy-glucopyranosyl]-uracil (**14**): 1.0 g Nitroverb. **10** (3.1 mMol) wurden mit 2 ccm Acetanhydrid, die mit einem Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt waren, 3 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach vorsichtiger Neutralisation der Mineralsäure mit wenig NaHCO₃-Lösung und Einrühren in Eiswasser bildete sich ein Sirup, von dem abdekantiert wurde. Bei weiterem Behandeln mit Eiswasser erhielt man ein festes Produkt: 700 mg (54%); Schmp. 115–117°; $[\alpha]_D^{20}$: +4° ($c = 1.1$ in Chloroform).

*NMR*²⁰ (CDCl₃): 2.65 (Dublett H an C-4, $J = 8$ Hz); 5.82 (CH₂); 7.91 (2 äquat. OAc); 7.98 τ (C-6'-OAc).

$C_{16}H_{19}N_3O_{11}$ (429.3) Ber. C 44.76 H 4.46 N 9.79 Gef. C 44.35 H 4.01 N 9.61

3-[3-Amino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-4,5-dihydro-uracil-hydrochlorid (**11**·HCl): Zu einer vorhydrierten Suspension von 700 mg PtO₂ und 6.2 ccm *n* HCl in 60 ccm Wasser wurden 2.0 g **10**, in 50 ccm Wasser suspendiert, zugegeben und die Hydrierung fortgesetzt. Im Verlauf von 2–3 Stdn. wurden 630 ccm H₂ aufgenommen (ber. 620 ccm). Die vom Katalysator befreite Lösung wurde i. Vak. (40° Badtemp.) zur Trockne eingedampft. Mehrmaliger Zusatz von absol. Äthanol mit nachfolgendem Abziehen i. Vak. ergab einen festen, stark hygroskopischen Rückstand. Zur Analyse wurde mit absol. Äthanol (etwas HCl-haltig) ausgewaschen und bei 110° i. Hochvak. getrocknet. Zers. ab 180°; $[\alpha]_D^{20}$: +20° ($c = 0.6$ in Wasser); $R_{Gm}^{34} = 1.1$.

$C_{10}H_{17}N_3O_6 \cdot HCl$ (311.5) Ber. C 38.53 H 5.82 Cl 11.42 N 13.48
Gef. C 38.58 H 6.12 Cl 11.52 N 13.15

3-[3-Acetamino-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-4,5-dihydro-uracil (**12**): 800 mg **11**-Hydrochlorid wurden mit 400 mg frisch geschmolzenem Natriumacetat und 30 ccm Acetanhydrid 5 Stdn. bei 140–150° unter Rückfluß erhitzt. Nach Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur wurde vom ausgeschiedenen NaCl und der Hauptmenge des eingesetzten Natriumacetates abfiltriert und anschließend die Lösung bei 1–2 Torr (Badtemp. 30°) eingedampft. Der zurückbleibende braungefärbte Sirup wurde in Chloroform aufgenommen, die Lösung mit wenig gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und das Chloroform i. Vak. abgezogen. Es blieb ein sirupöser Rückstand, der beim Anreiben mit wenig Äthanol kristallisierte. Aus 95-proz. Äthanol 550 mg (50%) Nadeln, Schmp. 281–283° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: –7° ($c = 0.52$ in Chloroform).

*NMR*²⁰: a) In CDCl₃: 7.93 (2 äquat. OAc); 7.95 (C-6'-OAc); 8.07 τ (äquat. NHAc).
b) In DMSO-d₆: 2.18 (NH-Dublett, $J = 8.5$ Hz); 4.43 (H-Dublett an C-1', $J_{1',2'} = 9$ Hz); 8.00, 8.04 und 8.07 (3 äquat. OAc); 8.27 τ (äquat. NHAc).

$C_{18}H_{25}N_3O_{10}$ (443.4) Ber. C 48.75 H 5.68 N 9.48 4Ac 38.83
Gef. C 48.57 H 5.74 N 9.49 Ac 39.42

Durch Behandeln mit 1 *n* HCl (30 Min., 100°) ließ sich **12** entacetylieren. Das entstandene **11** war chromatographisch rein ($R_{Gm} = 1.12^{34}$).

Pentaacetyl-3-amino-3-desoxy- β -D-glucopyranose (**7**) durch saure Hydrolyse von **11** und anschließende Acetylierung: 1.0 g **11**-Hydrochlorid wurde mit 15 ccm 4 *n* HCl 12 Stdn. im

siedenden Wasserbad erhitzt. Das Hydrolysat wurde unter wiederholter Zugabe von jeweils 10–15 ccm Wasser i. Vak. zur Trockne eingedampft, um die eingesetzte Salzsäure schonend zu entfernen, und der braune sirupöse Rückstand ohne weitere Reinigung mit 30 ccm *Pyridin/Acetanhydrid* (1 : 1) 3 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach wurde i. Hochvak. (40° Badtemp.) zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und die Lösung mit wenig gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Den nach Abziehen des Chloroforms verbleibenden Rückstand nahm man in wenig heißem Äthanol auf. Im Kühlschrank kristallisierten 250 mg **7** in Form feiner Nadeln (20%), Schmp. 204–206°, $[\alpha]_D^{20}$: +7.5° ($c = 0.6$ in Chloroform) (Lit.¹⁹): Schmp. 205–207°, $[\alpha]_D^{20}$: +8°.

[338/65]