

Frieder W. Lichtenthaler und Toshio Nakagawa

(mitbearbeitet von Juji Yoshimura *)

Nucleoside, II¹⁾

Theophyllin-Nucleoside der 3-Amino-3-desoxy- β -D-glucose, -mannose und -galaktose

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt

(Eingegangen am 20. Dezember 1966).

■

Ausgehend von 7-[β -D-Ribofuranosyl]- (1) bzw. 7-[β -D-Glucopyranosyl]-theophyllin (3) wurde durch Perjodatoxydation und anschließende Nitromethan-Cyclisierung ein Gemisch von 7-[3-Nitro-3-desoxy-hexopyranosyl]-theophyllin-Isomeren erhalten. Durch fraktionierte Kristallisation ließen sich die *gluco*-, *manno*- und *galakto*-Verbindungen (6, 4, 5) trennen. Katalytische Hydrierung führte zu den entsprechenden [3-Amino-3-desoxy- β -D-hexopyranosyl]-theophyllin-Nucleosiden (9, 7, 8), die als Hydroacetate, *N*-Acetate und Tetraacetate charakterisiert wurden. Die Konfigurationszuordnung ergab sich aus vergleichender Papierchromatographie, NMR-spektroskopischen Daten und chemischen Identifizierungsreaktionen.

■

Obwohl Theophyllin-Nucleoside weder im Tier- noch im Pflanzenreich beobachtet worden sind, hat sich der chemischen Synthese dieser Verbindungen beachtliches Interesse zugewendet²⁾. So war das erste synthetische Nucleosid überhaupt das 1914 von Fischer und Helferich³⁾ dargestellte 7-[β -D-Glucopyranosyl]-theophyllin (3). Auch in der Folge wurde Theophyllin aufgrund der guten Kristallisationsfähigkeit der Produkte häufig bei der Entwicklung neuer Methoden zur Darstellung von Glykosylpurinen herangezogen.

*) Gegenwärtige Adresse: Laboratory of Organic Chemistry, Tokyo Institute of Technology, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo.

1) F. W. Lichtenthaler und H. P. Albrecht, Chem. Ber. 99, 575 (1966), wird als I. Mittel betrachtet. — Zugleich VI. Mittel. der Reihe „Nitromethan-Kondensation mit Dialdehyden“.

2) J. A. Montgomery und H. J. Thomas, Advances Carbohydrate Chem. 17, 301 (1962).

3) E. Fischer und B. Helferich, Ber. dtsch. chem. Ges. 47, 210 (1914).

So sind die 7-Theophyllin-hexopyranoside der Glucose³⁻⁹⁾, 2-Desoxy-glucose¹⁰⁾, Galaktose^{5,11)}, Mannose¹²⁾, 6-Desoxy-D-allose¹³⁾ und L-Rhamnose¹⁴⁾ dargestellt worden, wie auch 7-Theophyllin-pentopyranoside der D-¹⁵⁾ und L-Arabinose^{11,16)}, 2-Desoxy-D-arabinose¹⁷⁾, 2-Desoxy-D-ribose¹⁸⁾ und D-Xylose¹⁹⁾. Von den den natürlichen Nucleosiden nächststehenden 7-Pentofuranosyl-theophyllinen sind bislang solche mit D-Ribose (**1**)²⁰⁻²³⁾, 3-Desoxy-D-ribose^{17,22)}, D-Arabinose^{5,22,24)}, 3-Desoxy-D-arabinose²²⁾ und D-Xylose²⁵⁾ als Zuckerkomponente synthetisiert worden. Im Gegensatz zu diesen relativ leicht darstellbaren 7-Glykosyl-theophyllinen können die entsprechenden N-9-Nucleoside infolge der Abschirmung des N-9 durch die N-3-Methylgruppe nicht durch direkte Glykosidierung erhalten werden. Ihre Synthese ist jedoch auf anderem Wege möglich^{26,27)}.

Von Theophyllin-Nucleosiden, die sich von Aminozuckern ableiten, ist bisher nur das nach der Schmelzmethode²³⁾ leicht zugängliche 7-[2-Acetamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-theophyllin²⁸⁾ bekanntgeworden. Durch Übertragung der Reaktionsfolge Perjodatoxydation → Nitromethan-Cyclisierung → Hydrierung^{1,29,30)} auf die synthetisch leicht darstellbaren Glykosyl-theophylline ergab sich nun die Möglichkeit,

- 4) J. M. Gulland und T. F. Macrae, J. chem. Soc. [London] **1933**, 662.
- 5) T. Shimidate, J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. [Nippon Kagaku Zasshi] **83**, 212 (1962), C. A. **59**, 5256 (1963).
- 6) K. Onodera und H. Fukumi, Agric. biol. Chem. [Tokyo] **27**, 864 (1963), C. A. **60**, 15965 (1964); K. Onodera, S. Hirano und H. Fukumi, ebenda **28**, 173 (1964), C. A. **61**, 713 (1965).
- 7) N. Yamaoka, K. Aso und K. Matsuda, J. org. Chemistry **30**, 149 (1965).
- 8) T. Hashizume und H. Iwamura, Tetrahedron Letters [London] **1965**, 3095.
- 9) K. Onodera, S. Hirano und F. Masuda, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 2189.
- 10) P. A. Levene und F. Cortese, J. biol. Chemistry **92**, 53 (1931).
- 11) B. Helferich und M. von Kühlewein, Ber. dtsh. chem. Ges. **53**, 17 (1920).
- 12) K. Onodera, S. Hirano, F. Masuda und N. Kashimura, J. org. Chemistry **31**, 2403 (1966).
- 13) P. A. Levene und J. Compton, J. biol. Chemistry **117**, 37 (1937).
- 14) E. Fischer und K. von Fodor, Ber. dtsh. chem. Ges. **53**, 1058 (1920); P. A. Levene und I. A. Muskat, J. biol. Chemistry **105**, 431 (1934); P. A. Levene und J. Compton, ebenda **114**, 9 (1936).
- 15) B. Lythgoe und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] **1944**, 592.
- 16) J. Pryde und R. T. Williams, J. chem. Soc. [London] **1933**, 640; J. M. Gulland, E. R. Holiday und T. F. Macrae, ebenda **1934**, 1639.
- 17) J. Davoll und B. Lythgoe, J. chem. Soc. [London] **1949**, 2526.
- 18) P. A. Levene und H. Sobotka, J. biol. Chemistry **65**, 463 (1925).
- 19) K. Onodera, S. Hirano, N. Kashimura, F. Masuda, T. Yazima und N. Miyazaki, J. org. Chemistry **31**, 1291 (1966).
- 20) G. A. Howard, B. Lythgoe und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] **1947**, 1052.
- 21) H. Bredereck und A. Martini, Chem. Ber. **80**, 401 (1947).
- 22) J. Davoll, B. Lythgoe und S. Trippet, J. chem. Soc. [London] **1951**, 2230.
- 23) T. Sato, T. Shimadate und Y. Ishido, J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. [Nippon Kagaku Zasshi] **81**, 1440, 1442 (1960), C. A. **56**, 11692 (1962); **82**, 938 (1961), C. A. **57**, 15216 (1962); T. Shimadate, ebenda **82**, 1268, 1270 (1961), C. A. **57**, 16727 (1962); Y. Ishido und T. Sato, Bull. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. [Nippon Kagaku Zasshi] **34**, 1347 (1961), C. A. **56**, 4751 (1962).
- 24) N. W. Bristow und B. Lythgoe, J. chem. Soc. [London] **1949**, 2306.
- 25) P. Chang und B. Lythgoe, J. chem. Soc. [London] **1950**, 19.
- 26) E. Bühler und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **100**, 492 (1967).
- 27) A. D. Brown und R. K. Robins, J. Heterocyclic Chem. **2**, 108 (1965).
- 28) T. Sato und Y. Ishido, Japan. Pat. 6695 (14. Juli 1964), C. A. **61**, 14772 (1964).
- 29) F. W. Lichtenthaler, Angew. Chem. **76**, 84 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. **3**, 211 (1964).
- 30) J. Beranek, H. A. Friedman, K. A. Watanabe und J. J. Fox, J. Heterocyclic Chem. **2**, 188 (1965); J. org. Chemistry **30**, 2735 (1965).

auf einfachem Wege in die Reihe der 3-Nitro- bzw. 3-Amino-hexosyl-theophylline zu gelangen. Vorliegende Arbeit berichtet über unsere mit diesem Ziel durchgeführten Untersuchungen.

Perjodatoxydation von 7-[β -D-Ribofuranosyl]- oder 7-[β -D-Glucopyranosyl]-theophyllin (1²³) bzw. 3³¹) führte in praktisch quantitativer Ausbeute zu dem bereits bekannten^{15,20,31}) Monohydrat des 2-O-[(*R*)-(Theophyllinyl-(7))-formyl-methyl]-(*R*)-glyceraldehyds (2)^{32,35}), der bei Cyclisierung mit Nitromethan/Natriummethylat in Methanol ein Gemisch von 7-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-hexopyranosyl]-theophyllin-Isomeren ergab.

Durch fraktionierte Kristallisation ließ sich das Gemisch in chromatographisch reine Substanzen auftrennen. Aus Wasser wurde mit 10-proz. Ausbeute zunächst die *manno*-Verbindung (4) in Nadeln erhalten. Abdampfen des Lösungsmittels und Kristallisation aus Äthanol führte zur Abtrennung der *galakto*-Verbindung (5), die sich durch Umkristallisation aus Äthanol/Wasser in zwei kristallographisch verschiedenen Formen (5A und 5B) isolieren ließ. Die eine (5A) wurde als Blättchen vom Schmp. 196–199° (Zers.) in 6-proz. Ausbeute erhalten, 5B mit 7-proz. Ausbeute (jeweils bez. auf 2) als Nadeln vom Schmp. 174–176°. Aus dem Filtrat der *galakto*-Verbindung konnte durch Abdampfen des Lösungsmittels und Kristallisation aus Methanol in 24-proz. Ausbeute die *gluco*-Verbindung (6) in Blättchen isoliert werden.

Katalytische Hydrierung der Nitroverbindungen 4–6 über 5-proz. Palladium/Tierkohle in Methanol/Wasser in Gegenwart von Essigsäure lieferte die Hydroacetate der entsprechenden Amine 7–9, die mit 1.5–2.0 Moläquiv. Acetanhydrid in absol. Methanol in die kristallisierten *N*-Acetate 10–12 übergeführt wurden.

Acetylierung der Acetaminoverbindungen 10–12 mit Pyridin/Acetanhydrid⁷ ergab die entsprechenden Tetraacetate 13–15, wobei nur die *gluco*-Verbindung kristallisiert erhalten wurde.

Die Konfiguration der Nitroverbindungen 4–6 sowie ihrer Folgeprodukte 7–15 konnte durch Identifizierung der bei saurer Hydrolyse gebildeten Aminosucker, durch Überführung der *gluco*-Verbindung in das *manno*-Isomere und durch NMR-spektroskopische Daten gesichert werden.

1. Als sehr einfache und zuverlässige Methode zur Konfigurationszuordnung erwies sich die papierchromatographische Identifizierung der bei saurer Hydrolyse der Aminohexosyl-theophylline 7–9 entstehenden Aminosucker, die sich auf Grund der

³¹) I. Kawashiro, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **74**, 328 (1954), C. A. **49**, 5305 (1955).

³²) Wir bevorzugen für 2 diese, nach der Nomenklatur von Cahn, Ingold und Prelog³³) von (*R*)-Glyceraldehyd abgeleitete Bezeichnung. Nach der für „Zuckerdialdehyde“ üblichen Nomenklatur³⁴) wäre 2 ein *L'*-Theophyllinyl-(7)-D-hydroxymethyl-diglykolaldehyd, wogegen Lythgoe und Todd¹⁵) die Bezeichnung α -(7-Theophyllin)- α' -(hydroxymethyl)-diglykolaldehyd benutzen.

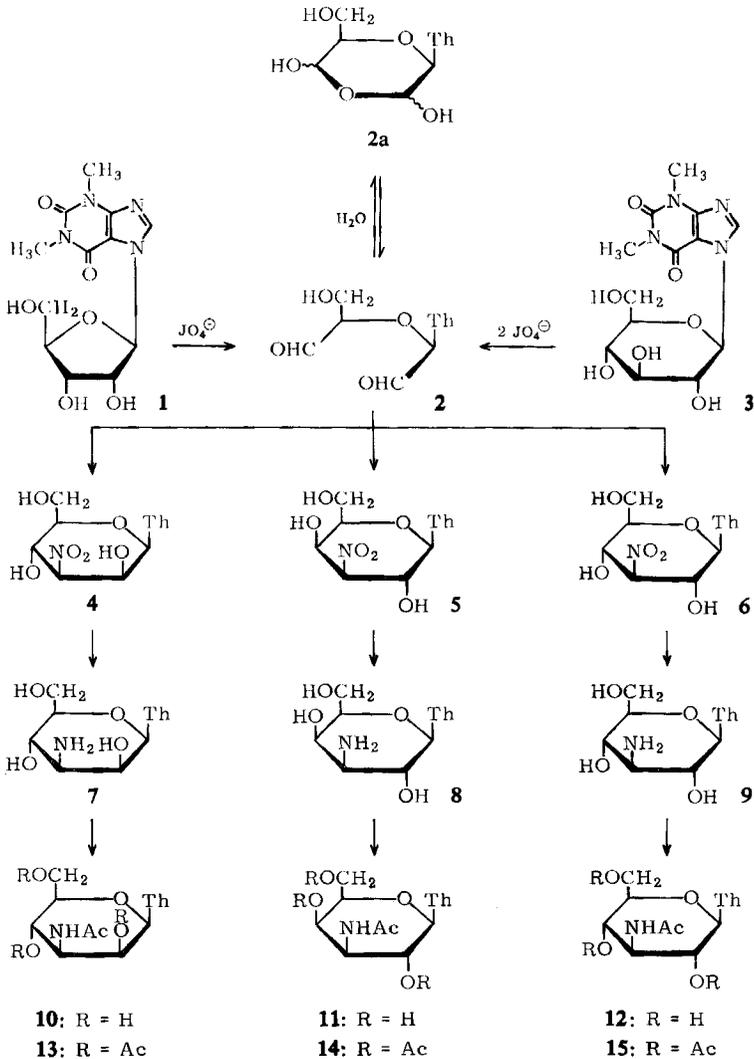
³³) R. S. Cahn und C. K. Ingold, J. chem. Soc. [London] **1951**, 612; R. S. Cahn, C. K. Ingold und V. Prelog, *Experientia* [Basel] **1**, 119 (1957); *Angew. Chem.* **78**, 413 (1966); *Angew. Chem. internat. Edit.* **4**, 385 (1966).

³⁴) E. E. Jackson und C. S. Hudson, J. Amer. chem. Soc. **59**, 995 (1937).

³⁵) Die Bildung eines Monohydrats sowie das Fehlen einer IR-Absorption bei 1725/cm weisen darauf hin, daß 2 im Kristall nicht in der offenkettigen Dialdehyd-Form vorliegt, sondern Hemialdal-Struktur (z. B. 2a)³⁶) besitzt.

³⁶) Vgl. R. D. Guthrie, *Advances Carbohydrate Chem.* **16**, 124 (1961).

R_F -Werte und der unterschiedlichen Farbänderungen bei Ninhydrin-Entwicklung³⁷⁾ charakterisieren lassen.



Das *gluco*-Isomere **9** ergab nach 4stdg. Hydrolyse (8 *n* HCl, 100°) einen gelbbraunen Fleck vom R_{Gm} 1.07^{38,40)}, der nach kurzer Zeit eine grau-violette Färbung annahm.

37) H. H. Baer, J. Amer. chem. Soc. **84**, 83 (1962).

38) Chromatographie absteigend auf Papier Schleicher & Schüll 2043 b; Laufmittel: Pyridin/Essigester/Eisessig/Wasser (5 : 5 : 1 : 3) mit Pyridin/Essigester/Wasser (11 : 40 : 6) als Bodenflüssigkeit³⁹⁾; Laufzeit: 30 Stdn.

39) F. G. Fischer und H. Doerfel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 224 (1955).

40) Wanderungsgeschwindigkeit R_{Gm} bez. auf Glucosamin-hydrochlorid ($R_F = 1$); Entwicklung mit Ninhydrin.

Authentische 3-Amino-3-desoxy-D-glucose zeigte ein identisches Verhalten. Die aus den zwei polymorphen Formen von **5** (**5A** bzw. **5B**) bei Hydrierung erhaltenen Aminohexosyl-theophylline (**8A** bzw. **8B**) waren nach 4 Stdn. ($8n$ HCl, 100°) vollständig hydrolysiert und ergaben einen für 3-Amino-3-desoxy-galaktose charakteristischen Fleck vom R_{Gm} 0.94^{38,40}) mit Farbänderung von Braungrau nach Grauviolett.

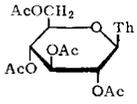
Das D-manno-Isomere **7** war auch nach 16 stdg. Erhitzen in $8n$ HCl nur teilweise gespalten. Im Hydrolysat ließ sich neben **7** (R_{Gm} 1.63) 3-Amino-3-desoxy-mannose auf Grund ihres R_{Gm} -Wertes (1.13^{38,40}) und der typischen Farbänderung (Graubraun \rightarrow Grauviolett) nachweisen.

2. An Hand NMR-spektroskopischer Daten⁴¹⁾ ließen sich ebenfalls eindeutige Konfigurationszuordnungen vornehmen.

a) gluco-Konfiguration von **6**, **9**, **12** und **15**

Die Nitro-Verbindung **6**, ihre Folgeprodukte **9**, **12** und **15**, sowie 7-[Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**16**) ergaben für das anomere Proton H^{1'} jeweils ein Dublett mit einer Kopplungskonstanten von 8–9 Hz (vgl. Tab. 1), deren Größe^{42,43)} eine diaxiale Anordnung der Protonen an C-1' und C-2' und damit das Vorliegen einer äquatorialen Hydroxy- bzw. Acetoxygruppe an C-2' beweist.

Tab. 1. Signallagen und Kopplungskonstanten erster Ordnung der anomeren Protonen (H^{1'})⁴¹⁾

Konfiguration	Verb.	Lösungsmittel	τ	$J_{1',2'}$ in Hz
gluco	6	DMSO-d ₆	4.28	8.0
	9	D ₂ O	4.17	8.0
	12	D ₂ O	4.20	9.0
	15	DMSO-d ₆	4.01	8.5
		CDCl ₃	3.94	9.5
	16 ⁴⁴⁾	CDCl ₃ ⁴⁵⁾	3.92	8.5
		DMSO-d ₆	3.95	8.5
galakto	5	DMSO-d ₆	4.32	8.0
	8	D ₂ O	4.15	8.5
	11	D ₂ O	4.16	8.0
	14	DMSO-d ₆	3.98	9.0
		CDCl ₃	4.04	8.5
manno	4	DMSO-d ₆	3.92	2.0
	7	D ₂ O	3.84	2.0
	10	D ₂ O	3.91	2.0
	13	DMSO-d ₆	3.57	2.0
		CDCl ₃	3.63	2.0

41) Alle Protonenresonanzspektren wurden mit dem Varian A 60-Spektrometer aufgenommen. Für die Spektren in CDCl₃ und DMSO-d₆ wurde Tetramethylsilan, in D₂O Natrium-3-trimethylsilyl-propansulfonat als innerer Standard verwendet.

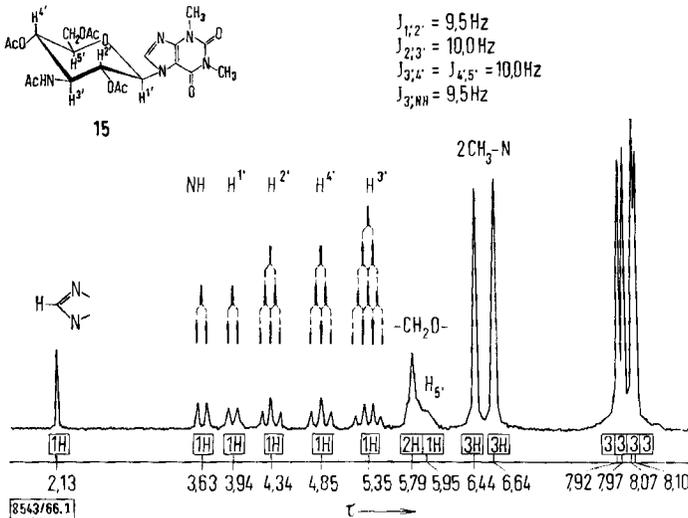
42) R. U. Lemieux, R. K. Kullnig, H. J. Bernstein und W. G. Schneider, J. Amer. chem. Soc. **80**, 6098 (1958); J. A. Pople, W. G. Schneider und H. J. Bernstein, High Resolution Nuclear Magnetic Resonance, S. 395, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York N. Y. 1959.

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

44) Verbindung **16** ist 7-[Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (3-Tetraacetat).

45) Werte aus l. c. 12).

Weitere Belege für die *gluco*-Konfiguration ließen sich aus der Signallage der Acetyl-methyl-Resonanzen von **15** ableiten (vgl. Abbild. 1 und Tab. 2). In CDCl_3 werden hierbei drei Signale im Intensitätsverhältnis 1:1:2 beobachtet, wobei die 3H-Singulett



Abbild. 1. 100 MHz-NMR-Spektrum in CDCl_3 von 7-[3-Acetamino-3-desoxy-2.4.6-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**15**)

Tab. 2. Signallage der Acetyl-methyl-Resonanzen von Tetraacetylglykosyl-theophyllinen ⁴¹⁾

Verb.	axiale OAc	CDCl_3 ⁴⁶⁾		axiale OAc	DMSO-d_6 ⁴⁷⁾	
		äquat. OAc*)	äquat. NHAc		äquat. OAc	äquat. NHAc
13	7.92	7.92 7.98	8.12	7.98	7.98 8.05	8.24
14	7.79	7.99 8.10	8.09	7.82	8.05 8.23	8.23
15	—	7.92 7.97 8.10	8.07	—	7.99 8.02 8.23	8.23
16 ⁴⁴⁾	—	7.94**) 7.98 8.10	—	—	7.94 7.99**) 8.17	—

*) Die Werte in dieser Spalte enthalten jeweils noch das Signal der primären C-6'-Acetoxygruppe.

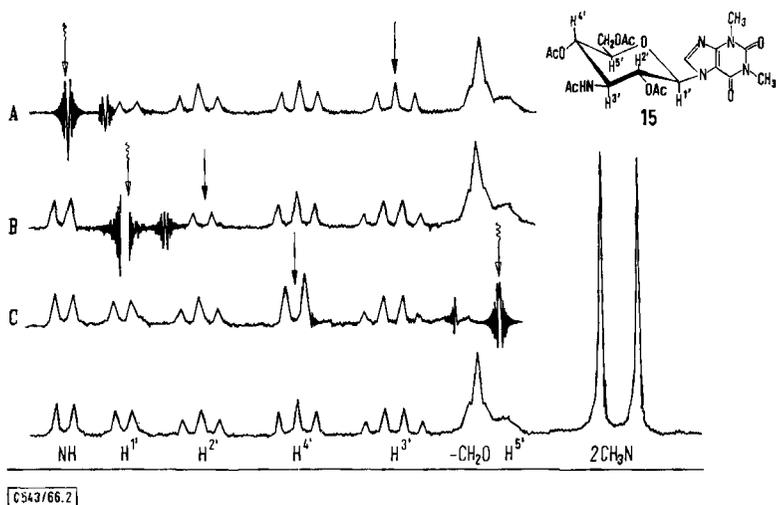
***) 6H-Signal.

⁴⁶⁾ Zur Zuordnung der Acetyl-Resonanzen in CDCl_3 vgl. l. c. 1.⁴²⁾ sowie F. W. Lichtenthaler, Chem. Ber. **96**, 2047 (1963).

⁴⁷⁾ In Dimethylsulfoxid- d_6 ist der Absorptionsbereich für Acetyl-Signale im Vergleich zu Deuteriochloroform um etwa 0.15 ppm nach höheren τ -Werten verschoben und im besonderen um etwa 0.1 ppm breiter, was auf Grund der besseren Aufspaltung eine eindeutige Zuordnung gestattet. An Hand der NMR-Daten einer Anzahl repräsentativer Aminocyclanol- und Aminozucker-acetate läßt sich eine eindeutige Korrelation zwischen Lage des Acetylsignals im 8τ -Gebiet und sterischer Orientierung der Gruppe ableiten⁴⁸⁾: axiale Acetoxygruppen 7.82–7.91 τ ; äquatoriale 7.94–8.14 τ , äquatoriale Acetaminogruppen 8.21–8.30 τ .

⁴⁸⁾ F. W. Lichtenthaler, H. Leinert und H. P. Albrecht, unveröffentlichte Ergebnisse.

bei 7.92 und 7.97 τ der äquatorialen und der primären Acetoxygruppe an C-4' und C-6' zuzuordnen sind⁴⁶). Die Signale bei 8.07 und 8.10 τ sind auf die äquatoriale Acetaminogruppe zurückzuführen sowie auf die C-2'-Acetoxygruppe, deren Methyl-Resonanz auf Grund der starken Abschirmung durch den benachbarten Purin-Kern nach höherem Feld verschoben ist. Entsprechend lassen sich die in DMSO- d_6 erhaltenen Acetylsignale (vgl. Tab. 2) interpretieren. Die Bestätigung dieser Zuordnung ergibt sich aus der eingehenden Analyse der Ringprotonen im 100 MHz-Spektrum von **15** (Abbild. 1) sowie durch Spinentkopplung (Abbild. 2). So wird das Signal für H-2' bei 4.34 τ erhalten, und zwar infolge Kopplung mit H-1' und H-3' als ein 9.5 Hz-Triplett (Abbild. 1). Aus der Größe der Kopplungskonstante^{42,43} geht hierbei eindeutig die jeweils axiale Orientierung der Protonen H-1', H-2' und H-3' hervor. Analoge Folgerungen lassen sich aus dem 10 Hz-Triplett für H-4' (4.85 τ) und dem 10 Hz-Quartett für H-3' (5.35 τ) ableiten (Abbild. 1 und 2).



Abbild. 2. Spinentkopplung der Ringprotonen in **15** bei 100 MHz

Von den zwei bei niederem Feld auftretenden Dubletts ist das bei 3.63 τ dem NH-Proton zuzuordnen, da sich bei Einstrahlung dieses Signals (vgl. Abbild. 2, A) das 1:3:3:1-Quartett für H-3' zu einem 1:2:1-Triplett vereinfacht. Analog wird bei Eliminierung der Kopplung zwischen H-1' und H-2' durch Einstrahlung bei 3.94 τ das 1:2:1-Triplett für H-2' in ein Dublett übergeführt (vgl. Abbild. 2, B). Schließlich läßt sich das 1:2:1-Triplett von H-4' bei Unterbindung der Kopplung mit H-5' zu einem Dublett (Abbild. 2, C) vereinfachen.

b) galakto-Konfiguration von **5**, **8**, **11** und **14**

Die vier Verbindungen **5**, **8**, **11** und **14** ergaben H-1'-Kopplungskonstanten (vgl. Tab. 1) von 8–9 Hz, woraus die jeweils axiale Orientierung von H-1' und H-2' sowie die äquatoriale Anordnung des Substituenten (OH bzw. OAc) an C-2' hervorgeht.

Im NMR-Spektrum des Tetraacetats (**14**) werden im 8τ -Gebiet vier Signale gleicher Intensität erhalten, wobei das Signal bei niedrigstem Feld (7.79τ in CDCl_3 ; 7.82τ in DMSO-d_6) aufgrund der für Acetoxy-Resonanzen festgelegten Bereiche^{46,47} einer axialen Acetoxygruppe zuzuordnen ist. Da die C-2'-OAc-Gruppe auf Grund des 9.5 Hz-Dubletts für H-1' äquatorial orientiert ist, kann **14** folglich nur *galakto*-Konfiguration besitzen.

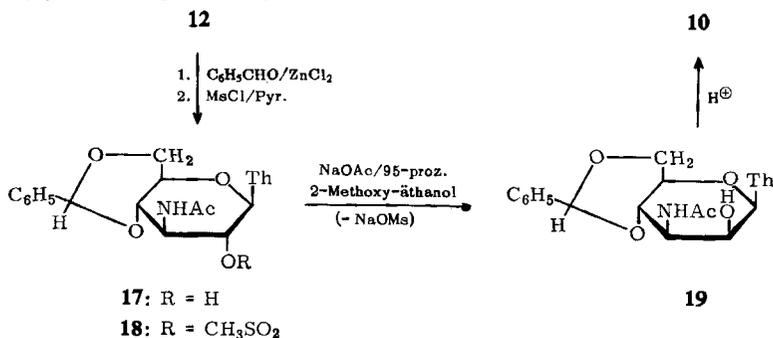
c) *manno*-Konfiguration von **4**, **7**, **10** und **13**

Für H-1' ergaben diese Verbindungen jeweils 1.5–2 Hz-Dubletts, was eine diaxiale Orientierung der Protonen an C-1' und C-2' ausschließt.

Zwischen den drei verbleibenden sterischen Anordnungen von H-1' zu H-2' – 1'a, 2'e wie in **4**, **7**, **10** und **13** oder 1'e, 2'a bzw. 1'e, 2'e in einem durch Epimerisierung an C-1' entstandenen 7-[α -D-Hexopyranosyl]-theophyllin – läßt sich direkt nicht entscheiden. Aufgrund der Ergebnisse von *Onodera et al.*¹²), wonach 7-[α -D-Mannopyranosyl]-theophyllin sowie dessen Tetraacetat nicht in der $1C_1$ -, sondern in der $1C$ -Konformation vorliegen und folglich für H-1' Dubletts mit $J_{1',2'} = 6.5\text{--}8.7$ Hz liefern, lassen sich eine mögliche α -D-*manno*- oder α -D-*galakto*-Konfiguration ausschließen. Für beide wäre ebenfalls $1C$ -Konformation und somit ein 6–9 Hz-Dublett für H-1' zu erwarten. Die Signallagen der Acetyl-Resonanzen des Tetraacetats **13** (vgl. Tab. 2) können zwanglos im Sinne der β -D-*manno*-Konfiguration interpretiert werden: infolge der starken Abschirmung durch den Purin-Rest ist das Signal der axialen C-2'-Acetoxygruppe nach höheren τ -Werten verschoben und fällt mit dem der äquatorialen an C-4' zusammen (7.92τ in CDCl_3 ; 7.98τ in DMSO-d_6), während das Signal bei höchstem Feld eindeutig das Vorliegen einer äquatorialen Acetamino-Gruppe anzeigt (vgl. Tab. 2).

3. Ein weiterer Beweis für die vorgenommenen Konfigurationszuordnungen ergab sich in der Überführung von 7-[3-Acetamino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**12**) in die entsprechende *manno*-Verbindung.

Hierzu wurde das *N*-Acetat **12** durch Umsetzung mit Benzaldehyd und Zinkchlorid in das 4'.6'-*O*-Benzyliden-Derivat **17** übergeführt, das mit Methansulfochlorid in Pyridin das 2'-Mesylat **18** lieferte. Ent-*O*-mesylierung von **18** durch Erhitzen mit Natriumacetat in 95-proz. Methoxyäthanol ergab infolge Inversion an C-2' durch Partizipierung der vicinalen Acetaminogruppe⁴⁹⁾ 7-[3-Acetamino-4.6-*O*-benzyliden-3-desoxy- β -D-mannopyranosyl]-theophyllin (**19**). Kurzes Erhitzen von **19** in 70-proz.



⁴⁹⁾ Zum stereochemischen Verlauf vgl. *B. R. Baker und T. Neilson, J. org. Chemistry* **29**, 1047 (1964).

Essigsäure lieferte ein *N*-Acetat, das in seinen Eigenschaften (Schmp., Misch-Schmp., IR- und NMR-Spektren sowie Drehwert) mit dem aus 7 durch *N*-Acetylierung erhaltenen 10 identisch war.

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 60 MHz-NMR-Spektren und Herrn Dr. U. Scheidegger (Varian AG, Zürich) für die Aufnahme der 100 MHz-Spektren zu Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche⁵⁰⁾

1. 2-*O*-[(*R*)-(Theophyllinyl-(7))-formyl-methyl]-(*R*)-glyceraldehyd (2)

a) Aus 7- $[\beta$ -*D*-Ribofuransyl]-theophyllin (1): 6.35 g (20 mMol) 1²³⁾ wurden unter Rühren in eine eisgekühlte Lösung von 4.35 g Natriummetaperjodat in 200 ccm Wasser gegeben. Die Suspension ließ man unter Rühren auf Raumtemp. kommen, bis eine fast klare Lösung entstanden war (45 Min.). Danach schied sich langsam Kristalle ab, die nach Aufbewahren der Lösung über Nacht (0–5°) abgesaugt und zweimal mit 30 ccm Wasser gewaschen wurden: 6.1 g (97%) nach Trocknen über P₂O₅ i. Vak. bei 110°; Schmp. 185–190° (Lit.^{15,31)}; 207–208° (Zers.); R_F 0.83⁵¹⁾; R_T 1.70⁵²⁾. 2 zeigt Mutarotation ($c = 0.71$, in Dimethylformamid), $[\alpha]_D^{25}$: –81° (15 Min.) → –72° (1 Stde.) → –40° (5 Stdn.) → +11° (30 Stdn.) → +37° (4 Tage) → +50° (8 Tage) → +54° (12 Tage), konstant.

C₁₂H₁₄N₄O₆·H₂O (328.3) Ber. C 43.90 H 4.91 N 17.07 Gef. C 43.75 H 4.91 N 17.12

b) Aus 7- $[\beta$ -*D*-Glucopyransyl]-theophyllin (3): In gleicher Weise wie oben wurden aus 61.7 g (0.18 Mol) 3³⁾ und 79.2 g Natriummetaperjodat 49.5 g (89%) 2 erhalten; nach Schmp., IR-Spektren, R_F -Wert und Drehverhalten identisch mit dem unter a) erhaltenen Produkt.

2. Nitromethan-Cyclisierung von 2 zum Nitrohexosyl-theophyllin-Gemisch: Zu einer Suspension von 37.2 g (0.12 Mol) 2 in 400 ccm absol. Methanol und 14.7 g (0.24 Mol) Nitromethan wurden unter Eiskühlung und Rühren 120 ccm einer *n* Natriummethylat-Lösung zutropft. Nach 20 Min. ließ man auf Raumtemp. kommen und rührte noch weitere 1.5 Stdn. Nach Behandeln mit ca. 100 ccm Kationenaustauscher (Merck 1, H[⊕]-Form, dreimal mit Methanol gewaschen), bis die Lösung pH 6 hatte, wurde bei 35° i. Vak. zu einem Sirup eingedampft: 51.1 g.

3. Fraktionierte Kristallisation

a) 7-[3-Nitro-3-desoxy- β -*D*-mannopyransyl]-theophyllin (4): 51.1 g des Cyclisierungsprodukts (s. oben) versetzte man mit 60 ccm Wasser und ließ über Nacht im Eisschrank stehen. Das kristallisierte Produkt wurde abgesaugt (Mutterlauge: „Filtrat A“) und i. Vak. bei Raumtemp. getrocknet: 8.65 g. Die Kristalle wurden zuerst aus 250 ccm, dann nochmals aus 200 ccm heißem Wasser umkristallisiert: 4.45 g (10.5%, bez. auf 2) farblose Nadeln vom Schmp. 224–226° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: +132° ($c = 1.13$, in Dimethylsulfoxid); R_F 0.64⁵³⁾; schwerlöslich in Methanol, Äthanol und kaltem Wasser.

C₁₃H₁₇N₅O₈ (371.3) Ber. C 42.05 H 4.61 N 18.86 Gef. C 42.19 H 4.58 N 18.76

50) Alle Schmp. wurden auf einem Mikrobloc bestimmt und sind nicht korrigiert.

51) Dünnschichtchromatogramm auf Merck Kieselgel HF₂₅₄₊₃₆₆; Laufmittel: *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5; organische Phase); Sichtbarmachung durch UV.

52) Wanderungsgeschwindigkeit R_T bezogen auf 7- $[\beta$ -*D*-Glucopyransyl]-theophyllin ($R_T = 1.00$).

53) Nach dreimaliger Entwicklung des Dünnschichtchromatogramms auf Merck Kieselgel HF₂₅₄₊₃₆₆; Laufmittel: *n*-Butylacetat/*n*-Butanol (3 : 1); Entwicklung durch UV.

b) 7-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-galaktopyranosyl]-theophyllin (**5**). **A-Form**: Die nach Isolierung von **4** (Rohprodukt) verbleibende Mutterlauge („*Filtrat A*“) wurde bei 35° i. Vak. zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 50 ccm Äthanol behandelt, wonach Kristallisation eintrat. Es wurde abgesaugt (Mutterlauge: „*Filtrat B*“), die Kristalle (22.4 g⁵⁴⁾) wurden mit 200 ccm heißem Äthanol digeriert und nach Abkühlen auf Raumtemp. filtriert: 8.7 g (Äthanol-lösung: „*Filtrat C*“). Das Produkt wurde zuerst aus einem Gemisch von 150 ccm Äthanol und 55 ccm Wasser (Mutterlauge: „*Filtrat D*“) umkristallisiert, dann nochmals aus 100 ccm Wasser: 2.6 g (6%, bez. auf **2**) farblose Blättchen vom Schmp. 196–199° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: +13° ($c = 1.04$, in Dimethylsulfoxid); R_F 0.61⁵³⁾; R_M 0.95⁵⁵⁾; schwerlöslich in Methanol, Äthanol und kaltem Wasser.

$C_{13}H_{17}N_5O_8$ (371.3) Ber. C 42.05 H 4.61 N 18.86 Gef. C 42.32 H 4.31 N 18.82

B-Form: „*Filtrat D*“ wurde bei 40° i. Vak. zur Trockne eingedampft und der Rückstand zweimal aus Methanol/Äther umkristallisiert: 3.0 g (7%, bez. auf **2**) farblose Nadelchen vom Schmp. 174–176°. NMR-Spektren, R_F - und Drehwert stimmten mit denjenigen der A-Form überein; ein Gemisch der A- und B-Form im Verhältnis 1:1 oder 1:10 schmilzt jeweils bei 196–199° (Zers.).

Gef. C 42.03 H 4.41 N 18.85

c) 7-[3-Nitro-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**6**): „*Filtrat B*“ dampfte man bei Raumtemp. i. Vak. zum Sirup ein, versetzte mit ca. 10 ccm Methanol und filtrierte das kristallisierte Rohprodukt **6** nach Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank.

„*Filtrat C*“ lieferte nach Eindampfen ebenfalls **6** als Rohprodukt. Beide Fraktionen wurden vereinigt und zweimal aus Methanol umkristallisiert: 11.1 g (24%, bez. auf **2**) farblose Plättchen vom Schmp. 160–162°; $[\alpha]_D^{25}$: +12° ($c = 1.05$, in Dimethylsulfoxid) und –3° ($c = 1.02$, in Wasser); R_F 0.70⁵³⁾; R_M 1.09⁵⁵⁾; löslich in Wasser, heißem Methanol und Äthanol.

$C_{13}H_{17}N_5O_8$ (371.3) Ber. C 42.05 H 4.61 N 18.86 Gef. C 41.71 H 4.53 N 18.83

4. Hydrierung der Nitrohexosyl-theophylline

Ein Tl. Nitrohexosid (**4**, **5** bzw. **6**) wurde in einem Gemisch von ca. 60 Tln. 50-proz. Methanol und ca. 6 Tln. 2*n* Essigsäure in Gegenwart von 0.1 Tl. 5-proz. Pd-Tierkohle hydriert (3 bis 5 Stdn.). Es wurde vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat mit 2*n* Ammoniak neutralisiert, i. Vak. zu einem Sirup eingedampft und mit Methanol oder Äthanol behandelt.

a) 7-[3-Amino-3-desoxy- β -D-mannopyranosyl]-theophyllin-hydroacetat (entspr. **7**): Ausb. 63% nach Umkristallisation aus Wasser/Äthanol; Schmp. 207–209°; $[\alpha]_D^{25}$: +107° ($c = 1.06$, in Wasser); R_{Gm} 1.63^{38,40)}.

$C_{15}H_{23}N_5O_8$ (401.4) Ber. C 44.88 H 5.78 N 17.45 Gef. C 45.09 H 5.84 N 17.25

b) 7-[3-Amino-3-desoxy- β -D-galaktopyranosyl]-theophyllin-hydroacetat (entspr. **8**): Beide polymorphen Formen von **5** (**5 A** bzw. **5 B**) ergaben **8** in 80- bzw. 84-proz. Ausb.; Schmp. 132–134°; $[\alpha]_D^{25}$: +38° ($c = 1.2$, in Wasser). Der Misch-Schmp. beider Produkte zeigte keine Depression. R_{Gm} 1.63^{38,40)}.

$C_{15}H_{23}N_5O_8$ (401.4) Ber. C 44.88 H 5.78 N 17.45 Gef. C 44.87 H 5.77 N 17.40

c) 7-[3-Amino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin-hydroacetat (entspr. **9**): **6** lieferte bei Hydrierung ein festes, amorphes Produkt, das als *N-Acetat* **12** charakterisiert wurde.

⁵⁴⁾ Dünnschichtchromatographie⁵³⁾ zeigte, daß die Kristalle aus **5** bzw. **6** (R_M ⁵⁵⁾ 0.95 bzw. 1.09) bestanden. **6** ist gut löslich in heißem Äthanol, **5** dagegen nicht.

⁵⁵⁾ Wanderungsgeschwindigkeit R_M bez. auf **4** (R_F 1.00)⁵³⁾.

5. N-Acetylierung der Aminohexosyl-theophylline

Zu einer Lösung⁵⁶⁾ von 1 Tl. *Amino-hexosid* (**7**, **8** bzw. **9**) in 10 Tln. absol. Methanol wurden unter Rühren 1.5–2.0 Moläquivv. *Acetanhydrid* tropfenweise zugegeben und noch weitere 1–2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, wobei Kristallisation eintrat. Es wurde abgesaugt, mit Äthanol gewaschen und aus Wasser/Methanol umkristallisiert.

a) 7-[3-Acetamino-3-desoxy- β -D-mannopyranosyl]-theophyllin (**10**): Ausb. 90%; feine Nadeln vom Schmp. 288–292° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: +35° ($c = 1.10$, in Wasser).

$C_{15}H_{21}N_5O_7$ (383.4) Ber. C 46.99 H 5.52 N 18.27 Gef. C 47.10 H 5.58 N 18.09

b) 7-[3-Acetamino-3-desoxy- β -D-galaktopyranosyl]-theophyllin (**11**): Ausb. 91%; Nadelchen vom Schmp. 252–255° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: +12° ($c = 1.51$, in Wasser).

$C_{15}H_{21}N_5O_7$ (383.4) Ber. C 46.99 H 5.52 N 18.27 Gef. C 46.86 H 5.64 N 18.13

c) 7-[3-Acetamino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**12**): Ausb. 66%; Nadelchen vom Schmp. 263–266° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: –35.6° ($c = 1.07$, in Wasser).

$C_{15}H_{21}N_5O_7 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ (392.4) Ber. C 45.94 H 5.65 N 17.86 Gef. C 45.34 H 5.23 N 17.72

6. Saure Hydrolyse der Aminohexosyl-theophylline; Papierchromatographische Identifizierung der 3-Amino-zucker

Ein Tl. *Aminohexosyl-theophyllin* wurde mit 20 Tln. 8*n* HCl 4 Stdn. (im Falle **8** bzw. **9**) oder 16 Stdn. (im Falle **7**) im siedenden Wasserbad erhitzt⁵⁷⁾. Das Hydrolysat dampfte man i. Vak. zur Trockne ein, gab 10–20 Tle. Wasser zu, dampfte wieder zur Trockne ein und untersuchte dann chromatographisch³⁸⁾.

3-Amino-mannose (aus **7**): R_{Gm} 1.13 (Lit.³⁷⁾: 1.13); Farbänderung nach Besprühen des Chromatogramms mit Ninhydrin von Gelbbraun über Braungrau nach Grauviolett.

3-Amino-galaktose (aus **8**): R_{Gm} 0.94 (Braungrau → Grauviolett; Lit.³⁷⁾: R_{Gm} 0.86).

3-Amino-glucose (aus **9**): R_{Gm} 1.07 (Gelbbraun → Grauviolett; Lit.³⁷⁾: R_{Gm} 1.05).

7. Peracetylierung der Aminohexosyl-theophylline

Ein Tl. der *Amino-* oder *Acetamino-hexoside* wurde mit 10 Tln. Pyridin und 2–3 Tln. *Acetanhydrid* behandelt. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemp. dampfte man bei 50° i. Vak. unter wiederholtem Nachdampfen mit Dioxan/Essigester (1 : 1) zur Trockne ein. Die Tetraacetate der *manno-* (**13**) und *galakto-*Verbindung (**14**) konnten hierbei nur als farblose Öle erhalten werden (NMR-Spektren vgl. Tab. 1, 2), während das *gluco-*Isomere (**15**) kristallisierte.

7-[3-Acetamino-3-desoxy-2.4.6-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**15**): Ausb. 76% (bez. auf **12**), nach Umkristallisation aus Methanol. Nadeln vom Schmp. 234–237°; $[\alpha]_D^{25}$: –32° ($c = 1.57$, in $CHCl_3$).

$C_{21}H_{27}N_5O_{10}$ (509.5) Ber. C 49.50 H 5.34 N 13.75 Gef. C 49.81 H 5.19 N 13.33

7-[3-Acetamino-4.6-O-benzyliden-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (**17**): Ein Gemisch von 1.55 g **12**, 6 g $ZnCl_2$ (frisch geschmolzen) und 30 ccm *Benzaldehyd* wurde bei Raumtemp. 6 Stdn. gerührt; dabei wurde es langsam eine klare Lösung. Man verdünnte mit 100 ccm Petroläther und übergieß unter Rühren mit ca. 100 ccm Eiswasser. Nach $\frac{1}{2}$ stdg. Rühren wurde der Niederschlag filtriert, mit kaltem Wasser, Petroläther und dann mit Metha-

⁵⁶⁾ **7** löste sich nicht in Methanol. Wurde aber in wenig Wasser gelöst, bei 40° i. Vak. zu einem Sirup eingedampft und dann mit absol. Methanol versetzt, so war eine klare Lösung zu erhalten.

⁵⁷⁾ Unter diesen Bedingungen werden **8** und **9** vollständig hydrolysiert, **7** dagegen auch nach längerem Erhitzen (16 Stdn.) nur teilweise.

nol gewaschen und bei 150° i. Vak. getrocknet. Ausb. 1.8 g (95%); Schmp. 306–309° (Zers.). Das Produkt ist ohne Reinigung für weitere Reaktionen verwendbar. Zur Analyse und optischen Bestimmung wurde aus Dimethylformamid umkristallisiert: farblose Nadelchen vom Schmp. 306–309° (Zers.) und $[\alpha]_D^{25}$: -39° ($c = 0.55$, in Dimethylsulfoxid); schwer löslich in Wasser und den üblichen organischen Lösungsmitteln.

$C_{22}H_{25}N_5O_7$ (471.5) Ber. C 56.04 H 5.35 N 18.86 Gef. C 55.95 H 4.99 N 18.88

7-[3-Acetamino-4.6-O-benzyliden-2-O-methansulfonyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-theophyllin (18): Zu einer Suspension von 1.50 g 17 in 30 ccm Pyridin wurden bei 0° tropfenweise 0.5 ccm Methansulfochlorid gegeben. Nach 20stdg. Rühren bei Raumtemp. wurde mit 150 ccm Eiswasser versetzt, bei 45° i. Vak. bis auf ca. 50 ccm eingedampft und mit 50 ccm Wasser verdünnt. Nach Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank wurde der Niederschlag filtriert, mit Wasser und Äthanol gewaschen und aus 200 ccm Methanol umkristallisiert: 0.50 g; Schmp. 201–203° (geringe Zers.). Einengen der Mutterlauge ergab weitere 0.48 g vom Schmp. 201–203° (geringe Zers.); Gesamtausb. 0.98 g (56%); $[\alpha]_D^{25}$: -75° ($c = 0.72$, in Dimethylformamid).

IR: 1345 (ν_{as} SO₂); 1180/cm (ν_s SO₂). NMR (in Dimethylsulfoxid-d₆): 7.15 τ (–OSO₂CH₃), 4.01 τ (H-1'; 8 Hz-Dublett), 2.70 τ (C₆H₅).

$C_{23}H_{27}N_5O_9S$ (549.6) Ber. C 50.26 H 12.74 N 5.83 S 5.88

Gef. C 50.94 H 13.04 N 5.50 S 5.50

7-[3-Acetamino-4.6-O-benzyliden-3-desoxy- β -D-mannopyranosyl]-theophyllin (19): 1.4 g 18 und 1.4 g Natriumacetat wurden in 20 ccm 95-proz. 2-Methoxy-äthanol 40 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde der Niederschlag filtriert, mit Methanol gewaschen und danach aus Pyridin/Wasser (10 : 1) umkristallisiert: 0.83 g (69%); Zers.-P. 335–336° nach Braunfärbung ab 330°. $[\alpha]_D^{25}$: $+17^\circ$ ($c = 0.57$, in Dimethylsulfoxid); schwer löslich in Wasser und allgemeinen organischen Lösungsmitteln; keine SO₂-Banden im IR (1345, 1180/cm).

$C_{22}H_{25}N_5O_7$ (471.5) Ber. C 56.04 H 5.35 N 14.86 Gef. C 56.28 H 4.99 N 15.27

7-[3-Acetamino-3-desoxy- β -D-mannopyranosyl]-theophyllin (10) durch Ent-O-benzylidenierung von 19: 0.65 g 19 wurden in 30 ccm 70-proz. Essigsäure eine Stde. unter Rückfluß erhitzt. Nach dreimaligem Schütteln mit Petroläther wurde die wäßr. Schicht i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus Wasser/Methanol umkristallisiert: 0.35 g (66%); nach Schmp., IR- und NMR-Spektren sowie Drehverhalten identisch mit dem aus 7 erhaltenen 10. Der Misch-Schmp. zeigte keine Depression.

[543/66]