

Hans Paulsen, Hubert Köster und Kurt Heyns

## Synthese von 9- $\beta$ -L-Sorbopyranosyl-adenin (9- $\beta$ -L-xylo-Hexulopyranosyl-adenin)

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg

(Eingegangen am 24. Februar 1967)

Benzylierung von L-Sorbose führt zu 1.3.4.5-Tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranose (1). NMR- und IR-Spektren von 1 weisen auf eine Fixierung der anomeren OH-Gruppe durch eine Wasserstoffbrücke. 1 ergibt mit HBr/Eisessig 1.3.4.5-Tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosylbromid (5), welches mit 6-Benzamino-9-chlormercuri-purin (10) das Nucleosid 11 liefert, aus dem 9- $\beta$ -L-Sorbopyranosyl-adenin (12) dargestellt wurde. Acylierte  $\alpha$ -L-Sorbopyranosen liegen in der 1C-, acylierte  $\beta$ -L-Sorbopyranosen in der C1-Konformation vor. Durch HBr-Abspaltung aus 5 wurde 1.3.4.5-Tetra-O-benzoyl-2-desoxy-L-threo-hexulo-2-enopyranose (13) erhalten.

Eble et al.<sup>1)</sup> isolierten aus Kulturfiltraten von *Streptomyces hygroscopicus* var. *decoyinine* ein Antibiotikum Psicofuranin, das antibakterielle und antitumoraktive Wirkungen zeigte. Die Verbindung enthält als Bausteine D-Psicose (D-ribo-Hexulose) und Adenin. Sie besitzt die Struktur eines 9-D-Psicofuranosyl-adenins und wurde von Schroeder und Hoeksema<sup>2)</sup> sowie Farkaš und Šorm<sup>3)</sup> synthetisiert. Baker et al.<sup>4)</sup> stellten 9- $\beta$ -D-Fructopyranosyl-adenin und 9- $\alpha$ -D-Fructofuranosyl-adenin dar. Letzteres erhöht die bakteriostatische Wirkung von Psicofuranin<sup>5)</sup>. Die vorliegende Untersuchung beschreibt die Synthese von 9- $\beta$ -L-Sorbopyranosyl-adenin (12), dessen Verhalten in den erwähnten Richtungen von Interesse ist.

Für die Synthese des Nucleosids kam nur das inzwischen entscheidend verbesserte Verfahren<sup>6,7)</sup> von Fischer und Helferich<sup>8)</sup> in Betracht. Danach sollte ein peracyliertes L-Sorbosylhalogenid mit 6-Benzamino-9-chlormercuri-purin (10) umgesetzt werden. Das einzige bisher bekannte Glykosylhalogenid der L-Sorbose, das von Schlubach und Graefe<sup>9)</sup> dargestellte 1.3.4.5-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosylchlorid, lieferte

1) T. E. Eble, H. Hoeksema, G. A. Boyack und G. M. Savige, *Antibiotics and Chemotherapy* **9**, 419 (1959).

2) W. Schroeder und H. Hoeksema, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 1767 (1959).

3) J. Farkaš und F. Šorm, *Tetrahedron Letters* [London] **1962**, 813.

4) E. J. Reist, P. A. Hart und B. R. Baker, *J. org. Chemistry* **24**, 1640 (1959).

5) J. F. Henderson, *Progress exp. Tumor Res.* **6**, 84 (1965).

6) J. Davoll und B. Lowy, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 1650 (1951).

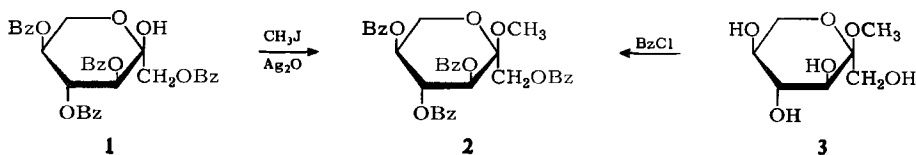
7) H. M. Kissman, C. Pidacks und B. R. Baker, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 18 (1955).

8) E. Fischer und B. Helferich, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **47**, 210 (1914).

9) H. Schlubach und G. Graefe, *Liebigs Ann. Chem.* **532**, 211 (1937).

bei Umsetzung mit **10** nur Spuren eines Nucleosids der L-Sorbose. Da es nicht gelang, ein kristallines Tetra-*O*-acetyl-L-sorbopyranosylbromid zu synthetisieren, wurden die benzylierten Derivate der L-Sorbose untersucht. Benzylierte Glykosylhalogenide liefern allgemein bei der Nucleosidsynthese bessere Ausbeuten<sup>10)</sup>.

Es gelingt, ein kristallisiertes Tetrabenzoat der L-Sorbose (**1**) in 85-proz. Ausbeute zu gewinnen, wenn man eine bei Raumtemperatur hergestellte Lösung von L-Sorbose in Pyridin langsam auf  $-10^\circ$  abkühlt und 4.1 Äquivalente Benzoylchlorid so zutropft, daß die Temperatur  $-5^\circ$  nicht übersteigt. Das langsame Abkühlen ist notwendig, damit sich das Gleichgewicht Pyranose  $\rightleftharpoons$  Furanose  $\rightleftharpoons$  Keto-Form möglichst weitgehend in die bei tiefer Temperatur thermodynamisch stabilere Pyranoseform verschiebt. Bei Einhaltung dieser Reaktionsbedingungen ist es möglich, die Benzylierungsreaktion fast quantitativ in eine Richtung zu lenken. Es gelingt nicht, durch Nachbenzylierung aus dem Tetrabenzoat **1** ein kristallisiertes Pentabenzoat zu gewinnen.



Der Strukturbeweis für **1** gründet sich auf die Überführung in ein Derivat des Methyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosids (**3**), dessen Ringgröße von *Whistler* und *Hixon*<sup>11)</sup> eindeutig bestimmt worden war. Durch Benzylierung von **3** wurde Methyl-1.3.4.5-tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosid (**2**) dargestellt, welches mit dem durch Methylierung von **1** erhaltenen Produkt identisch war. Da bei dieser Umsetzung die Konfiguration am anomeren C-Atom nicht verändert wird, sollte **1** in Übereinstimmung mit **3** in der  $\alpha$ -Form vorliegen.

Das IR-Spektrum von **1** zeigt in verdünnter Tetrachlorkohlenstofflösung eine konzentrationsunabhängige OH-Valenzschwingung bei 3400/cm, so daß eine intramolekular assoziierte OH-Gruppe vorliegt. Eine scharfe Bande bei 1690/cm wird als zweite assoziierte C=O-Valenzschwingung gedeutet, die bei den Verbindungen **2**, **4**, **5**, **6** und **7** fehlt.

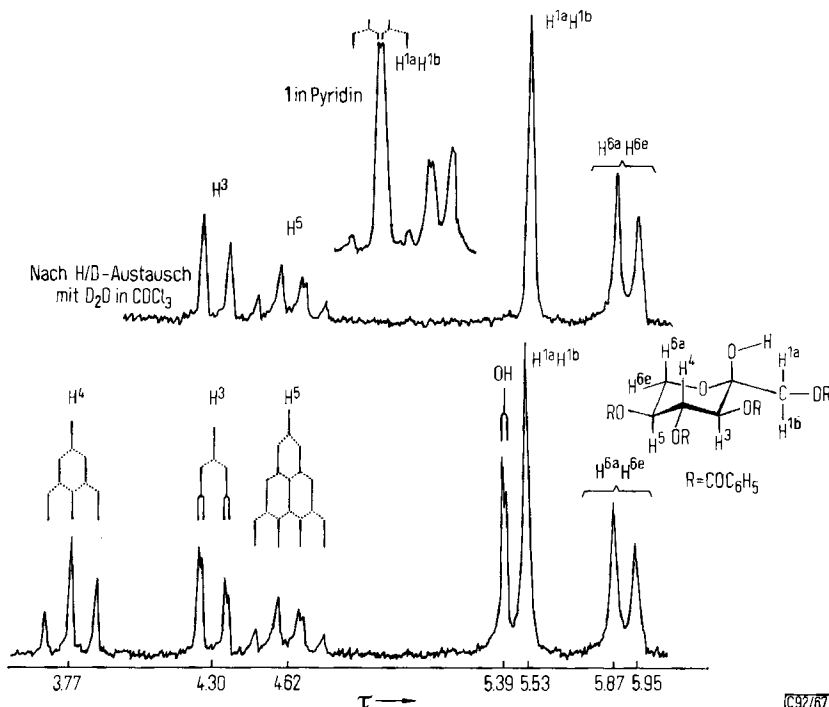
Das NMR-Spektrum (Abbild. 1) läßt weitere interessante strukturelle Einzelheiten von **1** erkennen. Die großen Kopplungskonstanten  $J_{\text{H}^3\text{H}^4}$  und  $J_{\text{H}^4\text{H}^5}$  von 10 Hz sprechen dafür, daß **1** in der 1C-Konformation vorliegt, denn diäquatoriale Vicinalkopplungen sollten in der Größe von 2–4 Hz liegen<sup>12)</sup>. Die Bevorzugung dieser Konformation ist verständlich, weil dann alle Benzoylgruppen in äquatorialer Stellung angeordnet sind. Bei Hochauflösung im 100-MHz-Spektrum zeigt sich eine Feinaufspaltung der Signale des Protons der anomeren OH-Gruppe und des axialen

<sup>10)</sup> B. R. Baker, J. P. Joseph und R. E. Schaub, J. Amer. chem. Soc. 77, 5905 (1955); J. J. Fox, N. Yung, J. Davoll und C. B. Brown, ebenda 78, 5060 (1957).

<sup>11)</sup> R. L. Whistler und R. M. Hixon, J. Amer. chem. Soc. 59, 2047 (1937).

<sup>12)</sup> R. U. Lemieux und J. D. Stevens, Canad. J. Chem. 43, 2059 (1965).

Protonen an C-3 von 1.0 Hz, die auf eine Fernkopplung zwischen beiden Protonen hindeutet. Spinentkopplungsversuche zeigen eindeutig das Vorhandensein einer  $4\sigma$ -Kopplung über einen Hydroxylsauerstoff hinweg, da sowohl Einstrahlung der Resonanzfrequenz des Protons der OH-Gruppe als auch von  $H^3$  die Kopplung zum Verschwinden bringt. Die Fernkopplung verschwindet auch beim Austausch des beweglichen OH-Protons durch Deuterium beim Ausschütteln mit  $D_2O$ . In Verbindung 4 ist die Fernkopplung ebenfalls nicht zu finden.

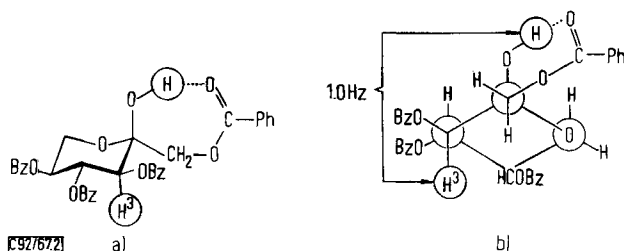


Abbild. 1. NMR-Spektrum von 1.3.4.5-Tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranose (1) (100 MHz, in  $CDCl_3$ , Tetramethylsilan als innerer Standard)

Voraussetzung für das Auftreten von  $4\sigma$ -Fernkopplungen ist eine weitgehende Fixierung aller beteiligten fünf Atome in einer Ebene in Form eines  $\sphericalangle$ <sup>13</sup>. Die beobachtete Fernkopplung zeigt demnach, daß die anomere OH-Gruppe ihre freie Drehbarkeit weitgehend eingebüßt hat. Da für das  $\beta$ -Anomere in der  $1C$ -Konformation die für das Auftreten von Fernkopplungen notwendigen sterischen Voraussetzungen nicht gegeben sind, ist die Fernkopplung ein weiterer unabhängiger Beweis für das Vorliegen des  $\alpha$ -Anomeren. Wir glauben, daß die IR-spektroskopisch nachgewiesene Wasserstoffbrücke die OH-Gruppe sterisch in einer Lage fixiert, die eine  $4\sigma$ -Fernkopplung zum Proton  $H^3$  ermöglicht.

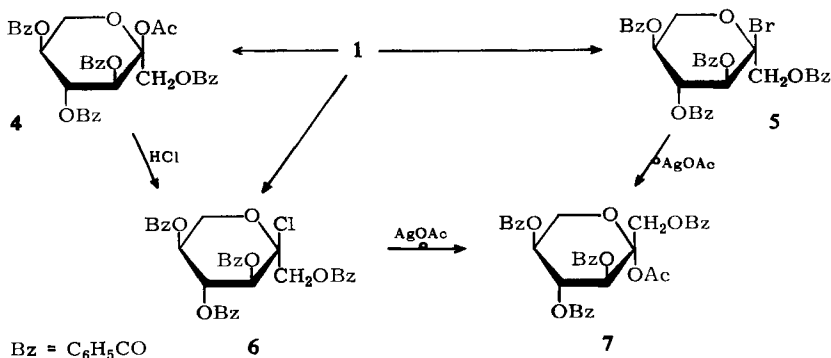
<sup>13</sup> A. Rassat, C. W. Jefford, J. M. Lehn und B. Waegell, Tetrahedron Letters [London] 1964, 233; S. Sternhell, Review of pure and appl. Chem. 14, 15 (1964).

Eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Carbonylsauerstoff der Benzoylgruppen an C-4 und C-5 kann aus sterischen Gründen ausgeschlossen werden. Die Benzoylgruppe an C-3 wäre sterisch in der Lage, eine Wasserstoffbrücke zu bilden, jedoch ist dann die für eine Fernkopplung notwendige Anordnung nicht mehr gegeben. Es bleibt die Möglichkeit einer Wasserstoffbrücke mit dem Ringsauerstoff, doch ist der Winkel zu spitz, so daß die Bildung dieser Wasserstoffbrücke sehr ungünstig ist. Dagegen wäre die an C-1 befindliche Benzoylgruppe sterisch am besten in der Lage, eine Wasserstoffbrücke mit dem Proton der anomeren OH-Gruppe zu bilden. Das NMR-Spektrum von **1** in Chloroform zeigt für die Methylenprotonen  $H^{1a}H^{1b}$  ein scharfes Singulett. Dies läßt sich entweder durch Annahme einer ungehinderten Rotation der  $CH_2OBz$ -Gruppe deuten, womit sie für die Bildung einer Wasserstoffbrücke ausscheidet, oder dadurch erklären, daß die Methylenprotonen in Chloroform die gleiche chemische Verschiebung besitzen. Das NMR-Spektrum von **1** in Pyridin zeigt für die Protonen der  $CH_2OBz$ -Gruppe tatsächlich zwei getrennte Signale (Abbild. 1). Das AB-System liefert Dubletts bei  $\tau = 5.02$  und  $5.25$  mit  $J_{H^{1a}H^{1b}} = 11.5$  Hz. Die  $CH_2OBz$ -Gruppe ist somit fixiert und kommt damit als Partner für die Wasserstoffbrücke zur anomeren OH-Gruppe in Betracht. Es ergibt sich daher auf Grund der IR- und NMR-Daten für **1** die in Abbild. 2 gezeigte Konformation.



Abbild. 2. Konformation von 1.3.4.5-Tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranose (**1**): a) Sesselprojektion, b) Newman-Projektion, Blick in Richtung C-1  $\rightarrow$  C-2

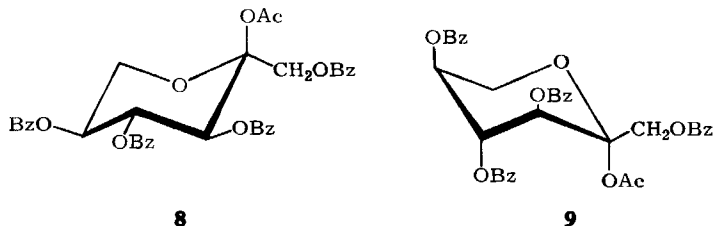
Es gelang nicht, durch Umsetzung von **1** mit Äther/Chlorwasserstoff ein Tetra-*O*-benzoyl-L-sorbopyranosylchlorid darzustellen. Durch Acetylierung von **1** wurde das 2-*O*-Acetyl-Derivat **4** erhalten, das mit Chlorwasserstoff in Äther leicht kristallisiertes 1.3.4.5-Tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosylchlorid (**6**) liefert. Einfacher und mit



besserer Ausbeute läßt sich **6** gewinnen, indem man **1** in Acetanhydrid mit Chlorwasserstoff umsetzt. Die Reaktion von **6** mit 6-Benzamino-9-chlormercuri-purin (**10**) führte nur mit 15% Ausbeute zum entsprechenden Nucleosid. Es wurde daher das reaktivere, kristallisiert erhältliche 1.3.4.5-Tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosylbromid (**5**) durch Umsetzung von **1** mit Bromwasserstoff in Eisessig dargestellt.

**5** und **6** liegen in der  $\alpha$ -Form vor. Dies ergibt sich aus der Umsetzung mit Silberacetat in Acetanhydrid, bei der nach *Koenigs* und *Knorr*<sup>14)</sup> beim Ersatz eines Halogenatoms gegen die Acetoxygruppe eine Waldensche Umkehr erfolgen soll. Aus **5** und **6** wurde 2-*O*-Acetyl-1.3.4.5-tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-sorbopyranose (**7**) mit einer Drehung von  $+58.5^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) erhalten. Das aus **1** dargestellte Acetat **4** besitzt eine Drehung von  $+8.3^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

Interessant ist ein Vergleich der Konformationen der Acetylverbindungen **4** und **7**. Die NMR-Spektren beider Substanzen konnten mit Hilfe der Doppelresonanztechnik vollständig analysiert werden (Tabb. 1 und 2). Das  $\alpha$ -Acetat **4** liegt wie **1** in der  $1C_4$ -Konformation **8** vor. Das  $\beta$ -Acetat **7** bevorzugt, wie die kleinen Kopplungskonstanten  $J_{\text{H}^3\text{H}^4}$  und  $J_{\text{H}^4\text{H}^5}$  zeigen, die  $C1_1$ -Konformation **9**. Dies ist bemerkenswert, weil drei Benzoylgruppen und die anomere Acetoxygruppe in axialer Stellung angeordnet sind. Konformationsdirigierend ist allein die  $\text{CH}_2\text{OBz}$ -Gruppe, die für das  $\beta$ -Anomere **9** in der  $C1_1$ -Konformation in äquatorialer Stellung steht. Ein ähnlicher Einfluß wurde kürzlich bei der 1.2.3.6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose beobachtet<sup>15)</sup>, bei der ebenfalls die  $C1_1$ -Konformation bevorzugt wird, in der vier axiale Substituenten einer äquatorialen  $\text{CH}_2\text{OAc}$ -Gruppe am C-Atom 5 gegenüberstehen.



Der Befund, daß Derivate der  $\alpha$ -L-Sorbopyranose in der  $1C_4$ -, Derivate der  $\beta$ -L-Sorbopyranose in der  $C1_1$ -Konformation vorliegen, scheint allgemein für die L-Sorbopyranose-Reihe zu gelten. So zeigen auch Penta-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-sorbopyranose<sup>16)</sup> und Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -L-sorbopyranose<sup>16)</sup> eine Umkehr der Konformation von  $1C_4 \rightarrow C1_1$ . Alle  $\alpha$ -Halogenzucker liegen, wie Tab. 1 und 2 zeigen, in der  $1C_4$ -Form vor.

Bemerkenswert ist, daß die Methylprotonen der axialen Acetoxygruppe von **7** im Gegensatz zu **4** bei einem  $\tau$ -Wert absorbieren, der bei Penta-*O*-acetyl-aldopyranosen für äquatoriale Acetoxygruppen charakteristisch ist<sup>17)</sup>. Da sowohl die  $\beta$ -L-Konfiguration als auch die  $C1_1$ -Konformation für **7** gesichert sind, trifft die für Penta-*O*-acetyl-aldopyranosen gültige

<sup>14)</sup> *W. Koenigs* und *E. Knorr*, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 963 (1901).

<sup>15)</sup> *H. Paulsen*, *W.-P. Trautwein*, *F. Garrido Espinosa* und *K. Heyns*, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 4137.

<sup>16)</sup> *F. Garrido Espinosa*, unveröffentlicht.

<sup>17)</sup> *L. D. Hall*, Advances in Carbohydrate Chem. **19**, 67 (1964); *F. W. Lichtenthaler*, Chem. Ber. **96**, 2047 (1963).

Tab. 1. Chemische Verschiebungen in  $\tau$ -Werten. Lösungsmittel  $\text{CDCl}_3$ , Tetramethylsilan als innerer Standard

	Methyl	Phenyl	H <sup>1a</sup> H <sup>1b</sup>	H <sup>3</sup>	H <sup>4</sup>	H <sup>5</sup>	H <sup>6a</sup>	H <sup>6e</sup>
1		2.2 und 2.8	5.53 5.06 5.18	4.30	3.77	4.62	5.87 5.95	b)
4	7.73	2.2 und 2.8	4.88 5.22	4.18	3.87	4.52	6.20	5.65
6		2.1 und 2.7	5.22 5.53	4.11	3.84	4.58	5.89	5.64
5		2.1 und 2.7	5.06 5.44	4.28	3.82	4.65	5.92	5.58
2	6.55	2.2 und 2.7	5.39 5.62	4.26	3.85	4.71	6.10	5.78
7	7.95	2.0 und 2.6	4.81 5.28	4.12	4.32	4.80	5.48 5.82	b)
13		2.0 und 2.6	4.99 5.11		4.12	4.62	5.47 5.74	b)

a) Lösungsmittel Pyridin. b) Unterscheidung zwischen H<sup>1a</sup> und H<sup>1b</sup> bzw. H<sup>6a</sup> und H<sup>6e</sup> nicht möglich.

Tab. 2. Kopplungskonstanten in Hz nach einer Näherung erster Ordnung

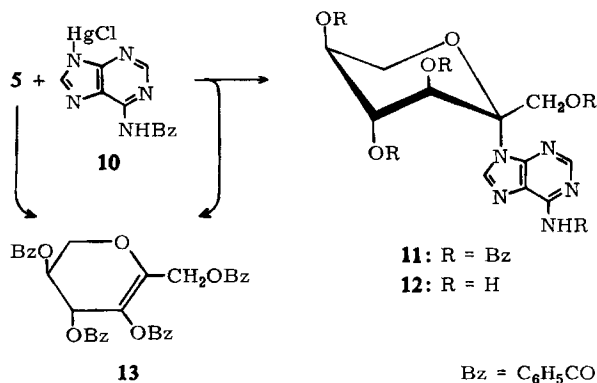
Konformation	$J_{\text{H}^1\text{a}\text{H}^1\text{b}}$	$J_{\text{H}^3\text{OH}}$	$J_{\text{H}^3\text{H}^4}$	$J_{\text{H}^3\text{H}^5}$	$J_{\text{H}^4\text{H}^5}$	$J_{\text{H}^5\text{H}^6\text{a}}$	$J_{\text{H}^5\text{H}^6\text{e}}$	$J_{\text{H}^6\text{a}\text{H}^6\text{e}}$
1	1C	11.5 in Pyridin	1.0	10.0		10.0		
4	1C	12.0		10.0		10.0	5.5	11.0
6	1C	12.0		10.0		10.0	6.0	11.5
5	1C	12.0		9.5		9.5	10.0	5.5
2	1C	12.0		9.0		9.0	10.0	5.0
7	CI	12.0		4.0	0.5	3.5–4.0		13.0
13	„Halb- sessel“	13.0				2–3	1–2	2–3

Regel hier offenbar nicht zu. Der zusätzliche Anisotropieeffekt des Phenylkernes dürfte von Bedeutung sein. Tab. 1 zeigt, daß beim Übergang 1C  $\rightarrow$  CI-Konformation charakteristische Änderungen in den chemischen Verschiebungen einzelner Protonen auftreten. Die Phenylprotonen werden zu niedrigerem Feld, die Methylprotonen der Acetoxygruppen zu höherem Feld verschoben. Außerdem wechseln die Protonen H<sup>3</sup> und H<sup>4</sup> die Lage im NMR-Spektrum.

Durch Reaktion des  $\alpha$ -L-Sorbopyranosylbromids **5** mit **10** wurde in 50-proz. Ausbeute 6-Benzamino-9-[1.3.4.5-tetra-O-benzoyl- $\beta$ -L-sorbopyranosyl]-purin (**11**) gewonnen. Dessen optische Rotationsdispersion zeigt einen positiven Cotton-Effekt bei 280 m $\mu$ . Bei Purin-Nucleosiden ist bisher noch keine Abweichung von der Hudsonschen Isorotationsregel<sup>18)</sup> festgestellt worden<sup>19)</sup>. Adenosin zeigt einen negativen,

<sup>18)</sup> C. S. Hudson, J. Amer. chem. Soc. **31**, 66 (1909).

<sup>19)</sup> T. R. Emerson, R. J. Swan und T. L. V. Ulbricht, Biochem. biophysic. Res. Commun. **22**, 505 (1966).



$\beta$ -L-Adenosin einen positiven Cotton-Effekt. Die hohe positive Drehung von  $+80.5^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>), verglichen mit der Drehung von Methyl-1.3.4.5-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -L-sorbopyranosid<sup>9)</sup> von  $+79.8^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>) und 2-*O*-Acetyl-1.3.4.5-tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-sorbopyranose (**7**) von  $+58.5^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>), wie auch der positive Cotton-Effekt sprechen für das Vorliegen des  $\beta$ -Anomeren. Das NMR-Spektrum läßt Kopplungskonstanten in der Größe von 4 Hz erkennen, so daß **11** in der C1-Konformation vorliegen dürfte, was gleichfalls mit der  $\beta$ -Form in Übereinstimmung steht.

Eine Isolierung von **11** ist nicht notwendig; meistens wurde nach *Baker et al.*<sup>4)</sup> der rohe Nucleosidsynthese-Ansatz direkt aufgearbeitet. Durch Entacetylierung nach *Zemplén* und Isolierung über das Pikrat wurde das freie 9- $\beta$ -L-Sorbopyranosyl-adenin (**12**) in 35-proz. Ausbeute in farblosen Nadeln erhalten. Die Hydrolyse von **12** in 2*n* HCl bei Raumtemperatur führt in kurzer Zeit zu Adenin und L-Sorbose. Das UV-Spektrum zeigt die für Nucleoside des Adenins charakteristischen Absorptionsmaxima bei 210 und 263 m $\mu$  (bei pH 6.2). Durch Untersuchung der UV-Absorption bei verschiedenen pH-Werten wurde sichergestellt, daß die Verknüpfung des L-Sorbosylrestes mit dem Adenin über N-9 erfolgt, denn das Verhalten von **12** gleicht dem von 9-Methyl-adenin<sup>20)</sup>. Das NMR-Spektrum weist auf das Vorliegen der C1-Konformation hin.

Bedeutungsvoll ist der Befund, daß bei Umsetzung von **5** mit **10** nur das  $\beta$ -Anomere gebildet wird, wohingegen bei Umsetzung von Tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fructopyranosylbromid mit **10** unter gleichen Bedingungen ein Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomeren im Verhältnis von etwa 1 : 1 entsteht. Wir nehmen auf Grund von Modellbetrachtungen an, daß das unterschiedliche Verhalten auf dem sterischen Einfluß der in der *D*-Fructose-Verbindung axial stehenden *O*-Benzoyl-Gruppe an C-5 zurückzuführen ist. Bei **5** ist durch Angriff von unten eine Reaktion mit weitgehendem S<sub>N</sub>2-Charakter möglich, die unter Umkehr und gleichzeitigem Übergang von 1C-  $\rightarrow$  C1-Konformation zum  $\beta$ -Anomeren **11** führt. Bei der Fructoseverbindung wird der Angriff des Purin-Ringes durch die axiale Benzoylgruppe an C-5 gehemmt, so daß die Reaktion

<sup>20)</sup> *J. M. Gulland und L. F. Story, J. chem. Soc. [London] 1938, 259.*

durch Bildung einer Benzoxonium-Zwischenstufe eingeleitet wird. Nach Baker<sup>4)</sup> sind eine 2.3-Benzoxonium- und zwei 1.2-Benzoxonium-Formen möglich, die zum  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch weiterreagieren.

Als Nebenprodukt der Nucleosidsynthese wurde nach säulenchromatographischer Reinigung 1.3.4.5-Tetra-*O*-benzoyl-2-desoxy-*L*-threo-hexulo-2-enopyranose (13) isoliert, die durch  $\beta$ -Eliminierung aus 5 entstanden ist. 13 wird auch durch direktes Erhitzen von 5 in *N,N*-Diäthyl-acetamid oder Xylol erhalten. Die Verbindung hat eine Drehung von  $[\alpha]_D^{25}$ : +121° ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), das Molekulargewicht wurde zu 573 bestimmt (ber. 578). Das IR-Spektrum zeigt keine OH-Absorption, wohl aber eine Bande bei 1110/cm, so daß der Pyranosering intakt sein dürfte. Das NMR-Spektrum läßt aus dem Verhältnis der Integralhöhen vier Benzoylreste bei sechs Protonen am Kohlenhydratgerüst erkennen. Die Struktur 13 ergibt sich aus der mit Hilfe von Spinentkopplungsversuchen durchgeführten Analyse des NMR-Spektrums (vgl. Tab. 1 und 2). Die kleinen Kopplungskonstanten  $J_{\text{H}^4\text{H}^5}$ ,  $J_{\text{H}^5\text{H}^6\text{a}}$  und  $J_{\text{H}^5\text{H}^6\text{e}}$  von 2–3 Hz sprechen für eine Konformation, die der eines Halbsessels nahesteht.

Für die Aufnahme der NMR-Spektren und Durchführung der Doppelresonanzexperimente danken wir Herrn *H. Rose*.

## Beschreibung der Versuche

**Chromatographie:** Alle Reaktionen wurden dünn-schichtchromatographisch verfolgt (Kieselgel G F<sub>254</sub>). Die folgenden Laufmittel wurden verwendet:

A (Benzol/Äther = 9 : 1), B (Chloroform/Äther = 9 : 1), C (Benzol/Äthanol = 9 : 1), D (n-Butanol/Triäthylamin/Äthanol/Wasser = 7 : 1 : 2 : 2), E (Benzol/Methanol = 1 : 1) und F (Benzol/Äthanol/Wasser = 10 : 9 : 1). Sichtbarmachung der Flecke durch Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure in Äthanol und Bromphenolblau/Silbernitrat in 50-proz. Aceton (Wood<sup>21)</sup>) und mit Hilfe der UV-Lampe. Bei Anwendung des Reagenzes nach Wood<sup>21)</sup> ist es vorteilhaft, vorher mit Essigsäure zu besprühen und den Überschuß durch Trocknen zu entfernen. Dann sind Adeninverbindungen als blaue Flecke auf gelbem Grund zu erkennen.

**NMR-Spektroskopie:** Varian HA 100. Die Spinentkopplungsversuche wurden mit dem Varian V 3521 A — Integrator — Decoupler nach der „frequency-sweep“-Methode durchgeführt.

**Optische Rotationsdispersion:** Die ORD-Messungen wurden mit dem Spektropolarimeter Cary 60 ausgeführt.

1.3.4.5-Tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -*L*-sorbopyranose (1): 18.0 g (0.1 Mol) trockene *L*-Sorbitose werden in 300 ccm absol. Pyridin bei Raumtemp. gelöst und die Lösung innerhalb einer Stde. auf  $-10^\circ$  abgekühlt. Dann werden tropfenweise (Innentemperatur immer  $< -5^\circ$ ) 57.6 g = 48 ccm (0.41 Mol) Benzoylchlorid zugegeben. Anschließend wird 1 Stde. gerührt, Eis zugegeben und weitere 5 Stdn. gerührt. Nach Dekantieren löst man den farblosen Sirup in 200 ccm Chloroform, schüttelt nacheinander je zweimal mit je 100 ccm Wasser, 2*n* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, verd. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser aus, trocknet mit CaCl<sub>2</sub>, dampft das Lösungsmittel i. Vak. bei 30° ab, versetzt den Rückstand mit wenig Petroläther (60–70°) und erwärmt auf dem Wasserbad. Durch tropfenweise Zugabe von Benzol in der Wärme löst sich der Rückstand langsam,

<sup>21)</sup> T. Wood, Nature [London] 176, 175 (1955).



Dabei tritt Kristallisation ein. Ausb. 50.5 g (85%). Aus Äthanol Prismen vom Schmp. 133–135°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +2° ( $c = 1$ , in Chloroform),  $[\alpha]_D^{25}$ : +49.8° ( $c = 1$ , in Dimethylformamid). Ausb. 42.4 g (71%).

$C_{34}H_{28}O_{10}$  (596.6) Ber. C 68.45 H 4.73 Gef. C 68.74 H 4.72

IR (Paraffin): 3400 (O–H-Valenz), 1730 und 1690 (C=O-Valenz, Benzoat), 1270 (O=C–O, Benzoat), 1105 (C–O–C-Valenz), 708/cm (Phenyl, monosubstituiert).

*Methyl-1.3.4.5-tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosid (2)*

a) 1.0 g (5.15 mMol) *Methyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosid (3)*<sup>22)</sup> werden in 20 ccm trockenem *Pyridin* gelöst, auf –5° abgekühlt und unter Rühren 4.72 ccm (5 Äquivv.) *Benzoylchlorid* zugetropft (Innentemperatur < 0°). Es wird 1 Stde. bei 0° gerührt und dann in Eiswasser gegeben. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie bei **1**. Aus Äthanol lange Nadeln, Schmp. 133–135.5°,  $[\alpha]_D^{20-5}$ : +12.2° ( $c = 1$ , in Chloroform). Ausb. 1.95 g (62%).  $R_F$ -Wert im Laufmittel A: 0.7, im Laufmittel B: 0.8.

$C_{35}H_{30}O_{10}$  (610.6) Ber. C 68.85 H 4.95 Gef. C 68.74 H 5.09

b) 6.0 g (10.06 mMol) **1** werden in 20 ccm *Methyljodid* gelöst und 7.5 g frisch dargestelltes *Silberoxid* hinzugefügt. Nach Abklingen der Reaktion wird 5 Stdn. unter Rühren auf 60° erwärmt, anschließend das Methyljodid abdestilliert und der trockene Rückstand sorgfältig mit insgesamt 100 ccm Äther extrahiert. Die Extrakte werden eingedampft und der Rückstand in wenig Benzol in der Wärme gelöst, worauf sich Nadeln abscheiden. Aus Äthanol Schmp. 134–136°,  $[\alpha]_D^{20-5}$ : +12.6° ( $c = 1$ , in Chloroform). Ausb. 4.74 g (77%). Misch-Schmp. mit dem nach a) erhaltenen Produkt 133–135.5°.

*2-O-Acetyl-1.3.4.5-tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranose (4)*: Zu 4.5 g (7.5 mMol) **1** in 25 ccm *Acetanhydrid* werden 3 g frisch geschmolzenes *Natriumacetat* gegeben. Unter Rühren wird innerhalb einer Stde. auf 100° erwärmt, nach weiteren 3 Stdn. bei 100° in Eiswasser gegeben, 12 Stdn. gerührt, nach Dekantieren der Sirup in 100 ccm Chloroform aufgenommen und die Lösung mit einer wäßr., verd.  $NaHCO_3$ -Lösung bis zur Neutralisation der Essigsäure ausgeschüttelt. Nach Auswaschen mit Wasser und Trocknen mit  $CaCl_2$  wird nach Abdampfen ein schaumiger Rückstand erhalten, der mit Petroläther (60–70°)/Benzol in der Wärme kristallisiert. Aus Äthanol Nadeln, Schmp. 172–173.5°,  $[\alpha]_D^{20-5}$ : +8.3° ( $c = 1$ , in Chloroform). Ausb. 2.19 g (46%).  $R_F$ -Wert im Laufmittel A: 0.40.

$C_{36}H_{30}O_{11}$  (638.6) Ber. C 67.71 H 4.73 Gef. C 67.57 H 4.78

IR (Paraffin): 1755 (C=O-Valenz, Acetat), 1730/cm (C=O-Valenz, Benzoat).

*1.3.4.5-Tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosylchlorid (6)*: 3.0 g (5.03 mMol) **1** werden in 10 ccm frisch dest. *Acetanhydrid* suspendiert und bei 0° bis zur Sättigung trockener *Chlorwasserstoff* eingeleitet. Nach 24stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. ist **1** gelöst. Die nach Einrühren in Eiswasser und Extrahieren mit 200 ccm Chloroform erhaltene  $CHCl_3$ -Phase wird nacheinander mit je 100 ccm eiskalter, verd.  $NaHCO_3$ -Lösung und Eiswasser gewaschen, mit  $CaCl_2$  getrocknet und unterhalb von 30° i. Vak. eingedampft. Der Rückstand kristallisiert aus Äther. Schmp. 132–135°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +22.7° ( $c = 1$ , in Methylenchlorid). Ausb. 1.97 g (63%).

$C_{34}H_{27}ClO_9$  (615.0) Ber. C 66.39 H 4.43 Cl 5.77

Gef. C 66.16 H 4.45 Cl 5.97 Mol.-Gew. 618 (osmometr. in Benzol)

**6** läßt sich mit 66% Ausb. ebenfalls durch Umsetzung von **1** mit flüssigem Chlorwasserstoff oder durch Reaktion von **4** in Äther mit Chlorwasserstoffgas mit 48% Ausb. darstellen.

<sup>22)</sup> E. Fischer, Ber. deutsch. chem. Ges. **28**, 1145 (1895).

*1.3.4.5-Tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -L-sorbopyranosylbromid (5)*: 20.0 g (33.5 mMol) **1** (i. Vak. getrocknet) werden unter Erwärmen in 50 ccm frisch über  $P_4O_{10}$  getrocknetem und dest. Eisessig gelöst, auf Raumtemp. abgekühlt und mit 50 ccm 32-proz. Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig versetzt. Die Lösung wird 6 Stdn. bei Raumtemp. und 12 Stdn. bei 0° aufbewahrt. Die abgeschiedenen Kristalle werden abgesaugt, mit Eisessig, Eisessig/Petroläther (60–70°) (1 : 1) und Petroläther gewaschen, dann in 500 ccm Äther gelöst, die Lösung unterhalb von 30° i. Vak. eingedampft, der schaumige Rückstand 6 Stdn. bei 0.01 Torr von den letzten Spuren Bromwasserstoff und Eisessig befreit und in wenig absol. Äther gelöst. Bei –20° kristallisiert **5** in farblosen Drusen. Schmp. 146–148° (Zers.);  $[\alpha]_D^{22.5}$ : –8.2° ( $c = 1$ , in Methylchlorid). Ausb. 14.9 g (68%).

$C_{34}H_{27}BrO_9$  (659.5) Ber. C 61.92 H 4.13 Br 12.12 Gef. C 62.06 H 4.15 Br 12.13

*2-O-Acetyl-1.3.4.5-tetra-O-benzoyl- $\beta$ -L-sorbopyranose (7)*: 2.0 g (3.04 mMol) **5** in 45 ccm Acetanhydrid und 3 g trockenes Silberacetat werden 2 Stdn. bei Raumtemp. geschüttelt. Dann wird langsam auf 80° erwärmt, 30 Min. gerührt, nach Absaugen von AgBr in Eiswasser gegeben, 12 Stdn. gerührt und die Mischung dreimal mit je 60 ccm Chloroform extrahiert. Die vereinigten Auszüge werden mit verd., wäBr.  $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, mit  $CaCl_2$  getrocknet und zum Sirup eingedampft.  $[\alpha]_D^{23}$ : +58.5° ( $c = 1$ , in Chloroform). Ausb. 1.28 g (66%).  $R_F$ -Wert im Laufmittel A: 0.41. Durch Mehrfach-Dünnschichtchromatographie im Laufmittel A sind **4** und **7** trennbar.

$C_{36}H_{30}O_{11}$  (638.6) Ber. C 67.71 H 4.73 Gef. C 67.62 H 4.85

**7** läßt sich in gleicher Weise mit 52% Ausb. aus **6** darstellen.

*6-Benzamino-9-chlormercuri-purin (10)*: Ein besonders reines Produkt wurde wie folgt erhalten: Zu einer Lösung von 11.278 g (41.8 mMol) getrocknetem  $HgCl_2$  in 116 ccm 50-proz. Äthanol werden 10.000 g (41.8 mMol) trockenes 6-Benzamino-purin<sup>23</sup> gefügt. Die Suspension wird unter kräftigem magnetischen Rühren auf 50° erwärmt. Dann werden 20 ccm Aceton zugesetzt und aus einer Bürette genau 41.8 mMol 2n NaOH innerhalb einer Stde. zuge tropft. Nach Zugabe von  $\frac{2}{3}$  der Natronlauge wird die Suspension sehr dickflüssig; durch Zugabe von Wasser wird etwas verdünnt. **10** fällt in feinen Nadeln an und ist direkt filtrierbar. Der Niederschlag wird gründlich unter mehrfachem Aufrühren mit 3 l Wasser, anschließend mit 0.5 l Äthanol und 0.5 l Äther gewaschen und trockengesaugt. Das farblose, kristalline Produkt wird im Vakuumexsikkator über  $P_4O_{10}$  aufbewahrt. Ausb. 18.97 g (98%).

*6-Benzamino-9-[1.3.4.5-tetra-O-benzoyl- $\beta$ -L-sorbopyranosyl]-purin (11)*: 3.14 g (7.6 mMol) **10** werden in 250 ccm Xylol suspendiert und unter Rühren 50 ccm Xylol abdestilliert. Dann wird eine Lösung von 5.0 g (7.6 mMol) **5** in 200 ccm Xylol hinzugefügt, nach 2 Stdn. Rühren und Rückflußerhitzen filtriert, das Filtrat im Rotationsverdampfer eingedampft, der Rückstand in 50 ccm  $CHCl_3$  aufgenommen, die Lösung mit 15 ccm 30-proz. KJ-Lösung und 15 ccm Wasser ausgeschüttelt, mit  $CaCl_2$  getrocknet und zu einem hellgelben Sirup eingedampft. Den Sirup (5.74 g) trennt man säulenchromatographisch an 220 g Kieselgel (Herrmann). Beginnend mit Benzol/Chloroform (2 : 1) werden folgende Fraktionen erhalten:

1150 ccm Benzol/Chloroform (2 : 1): 1.6 g **13**;

1150 ccm Benzol/Chloroform (1 : 1): 1.5 g **13** + **11** und Spuren **4** + **1**;

250 ccm Benzol/Chloroform (1 : 2): 1.7 g **11**;

2500 ccm Benzol/Chloroform (1 : 3): 0.5 g **11** + Spuren von drei unbekanntenen Nucleosiden + 6-Benzamino-purin.

<sup>23</sup> A. Kossel, Z. physiol. Chem. **12**, 241 (1888).

Man engt die nur **11** enthaltende Fraktion ein, löst in Benzol, filtriert und erhält durch Fällen mit Petroläther ein farbloses Pulver. Schmp. 130–135°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +80.5° ( $c = 1$ , in Chloroform),  $[\alpha]_D^{25}$ : +86.3° ( $c = 1$ , in Dimethylformamid).  $R_F$  0.6 (Laufmittel C).

$C_{46}H_{35}N_5O_{10}$  (817.8) Ber. C 67.58 H 4.31 N 8.56

Gef. C 66.78 H 4.60 N 8.14 Mol.-Gew. 824 (osmometr. in Benzol)

IR (Paraffin): 3220 (N–H-Valenz), 1730 (C=O-Valenz, Benzoat), 1600 und 1580 (C=C, Phenyl und C=N, Purin), 1255 (O=C–O, Benzoat), 1105 (C–O–C-Valenz), 707/cm (Phenyl, monosubstituiert).

UV (Chloroform):  $\lambda_{max}$  248 m $\mu$  ( $\epsilon = 2.55 \cdot 10^4$ ), 282 ( $2.65 \cdot 10^4$ ).

Optische Rotationsdispersion:  $c = 0.05$  mg/ccm Chloroform:  $[\Phi]_{320}$ : +6540,  $[\Phi]_{293}$ : +14720,  $[\Phi]_{268}$ : –14720.

1.3.4.5-Tetra-O-benzoyl-2-desoxy-L-threo-hexulo-2-enopyranose (**13**): Bei der Säulenchromatographie des Nucleosidsynthese-Ansatzes zur Darstellung von **11** wurden als Vorlauf 1.6 g **13** in Form eines dünn-schichtchromatographisch reinen amorphen Pulvers gewonnen.  $R_F$ -Wert im Laufmittel A 0.7, im Laufmittel C 0.85.  $[\alpha]_D^{25}$ : +121° ( $c = 1.36$ , in Chloroform).

$C_{34}H_{26}O_9$  (578.6) Ber. C 70.58 H 4.53 Gef. C 70.63 H 4.67

Mol.-Gew. 587 (osmometr. in Chloroform), 555 (osmometr. in Benzol)

IR (Paraffin): 1730 (C=O-Valenz, Benzoat), 1250 (O=C–O, Benzoat), 1105 (C–O–C), 705/cm (Phenyl, monosubstituiert).

500 mg **5** wurden in 50 ccm *N,N*-Diäthyl-acetamid oder Xylol 1.5 Stdn. auf 140° erhitzt. Dünn-schichtchromatographisch wurde ein Hauptreaktionsprodukt festgestellt, welches mit **13** im Laufmittel A und C identisch war.

9- $\beta$ -L-Sorbopyranosyl-adenin (**12**): 10.0 g (21.5 mMol) **10** werden in 1 l frisch dest. Xylol (über Natrium getrocknet) suspendiert und unter kräftigem Rühren durch azeotrope Destillation von 100 ccm Xylol von Feuchtigkeitsspuren befreit. 14.2 g (21.5 mMol) **5** werden in 1500 ccm Xylol gelöst, auf 80° erwärmt und unter kräftigem Rühren hinzugegeben. Nach 2 Stdn. Erhitzen unter Rückfluß läßt man etwas abkühlen, filtriert von ausgefallenen Quecksilberhalogeniden ab, dampft das Filtrat im Rotationsverdampfer bei 60° ein, extrahiert mit 120 ccm  $CHCl_3$ , schüttelt mit 100 ccm einer 30-proz. KJ-Lösung und mit 75 ccm Wasser aus, trocknet mit  $CaCl_2$  und dampft zum dunkelgelben Sirup ein. Ausb. 12.0 g (74%).  $[\alpha]_D^{25}$ : +55° ( $c = 1$ , in Chloroform).

Dem Sirup in 200 ccm absol. Methanol werden 20 ccm *n* NaOCH<sub>3</sub>-Lösung hinzugefügt und 50 Min. auf 75° erhitzt. Die dunkelbraune Lösung soll nach beendeter Reaktion einen pH-Wert von mindestens 9 besitzen. Es wird mit Dowex 50 (H<sup>+</sup>) neutralisiert, nach Filtrieren eingedampft, mit 250 ccm Wasser versetzt, das gebildete Methylbenzoat durch zweimaliges Ausschütteln mit je 150 ccm Äther entfernt, die wäßr. Phase eingedampft und der Rückstand in 200 ccm absol. Methanol gelöst. Durch Zugabe von 200 ccm einer 10-proz. Lösung von Pikrinsäure in absol. Methanol wird das amorphe Nucleosid-Pikrat gefällt. Nach einstdg. Stehenlassen bei 0° wird abgesaugt, nacheinander gründlich mit absol. Methanol, Wasser und absol. Methanol gewaschen und im Vakuumtrockenschrank bei 40° getrocknet. Rohausb. 4.57 g (40%).

Zur Suspension des zermahlenden Pikrats in 100 ccm Wasser werden unter Rühren innerhalb einer Stde. 9 g Dowex 2 (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-Form) in kleinen Portionen zugegeben. In etwa 6–8 Stdn. hat sich das Pikrat gelöst; es wird abfiltriert (falls die Lösung zu stark gefärbt ist, wird mit möglichst wenig Aktivkohle geklärt), im Rotationsverdampfer eingedampft, der hellgelbe

Rückstand in 5 ccm Wasser gelöst und bei Raumtemp. stehengelassen. Nach 12 Std. ist die Kristallisation beendet. Die farblosen, fein verfilzten Nadeln werden abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator über  $P_4O_{10}$  getrocknet. Ausb. 2.24 g (35%). Schmp. 164–167°,  $[\alpha]_D^{23}$ : +116.5° ( $c = 1$ , in Dimethylformamid),  $[\alpha]_D^{23}$ : +74.8° ( $c = 0.4$ , in Methanol),  $[\alpha]_D^{23}$ : +69.2° ( $c = 0.5$ , in Wasser).  $R_F$  0.45 (Laufmittel D), 0.55 (Laufmittel E), 0.29 (Laufmittel F).

$C_{11}H_{25}N_5O_5 \cdot H_2O$  (315.3) Ber. C 41.90 H 5.44 N 22.22 Gef. C 41.99 H 5.23 N 22.46

IR (Paraffin): 3330 (O–H-Valenz), 3220 (N–H-Valenz), 1650 (N–H-Deformation), 1600 und 1560 (C=N, Purinring), 1100/cm (C–O–C-Valenz).

UV (Wasser): (pH 6.2) 210  $m\mu$  ( $\epsilon = 1.69 \cdot 10^4$ ), 263 ( $1.41 \cdot 10^4$ ); (pH 1.2) 213 und 263  $m\mu$ ; (pH 12.65) 221 und 263  $m\mu$ .

[92/67]