

Richard R. Schmidt, Ulrich Schloz und Dieter Schwille

Synthese 5'-modifizierter Adenosinderivate

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Stuttgart

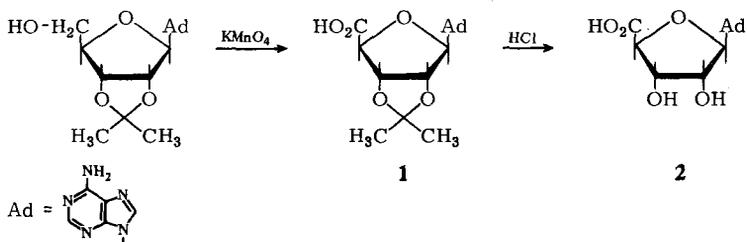
(Eingegangen am 25. August 1967)

Es werden neue und einfache Verfahren zur Synthese von Adenosin-5'-carbonsäure (**2**), 5'-*O*-Tosyl-adenosin (**3**), 5'-*O*-Tosyl-adenosin-5'-d₂ (**11**) und 5'-Amino-5'-desoxy-adenosin (**4**) ausgehend von 2'.3'-*O*-Isopropyliden-adenosin beschrieben.

Die Funktion des Coenzym Adenosyl-B₁₂ im enzymatischen Geschehen ist nach wie vor ungewiß. Untersuchungen über speziell modifizierte Cobalamine sollten wichtige Hinweise und Beweise für die mechanistische Interpretation der Adenosyl-B₁₂-katalysierten Reaktionen liefern. Da die Co – C-Bindung, durch die das 5'-Kohlenstoffatom des Adenosylrestes mit dem Kobaltatom verknüpft ist und die 5'-Wasserstoffatome des Adenosylrestes eine zentrale Rolle in der mechanistischen Diskussion spielen, stellten wir 5'-modifizierte Adenosinderivate dar mit dem Ziel, sie in entsprechend modifiziertes Adenosyl-B₁₂ zu überführen und im enzymatischen Verhalten zu testen.

Adenosin-5'-carbonsäure (**2**)

Versuche, die von Todd et al.¹⁾ beschriebene Direktoxydation von Adenosin zu Adenosin-5'-carbonsäure (**2**) mit Luftsauerstoff an einem Platindioxid-Kontakt durchzuführen, waren infolge der außerordentlich leichten Vergiftbarkeit des Katalysators mit Schwierigkeiten verbunden. Es erschien uns deshalb geraten, ein nicht katalytisches Verfahren zur Synthese von **2** aufzusuchen, wobei als Ausgangsprodukt Adenosin oder 2'.3'-*O*-Isopropyliden-adenosin in Betracht kamen. Die Anforderung an das Oxydationsmittel war, primäre Alkohole in alkalischer Lösung in Carbonsäuren zu überführen, ohne die glykosidische Bindung und vor allem die ungeschützte Aminogruppe des Adenins anzugreifen. Überraschenderweise gelang es, 2'.3'-*O*-

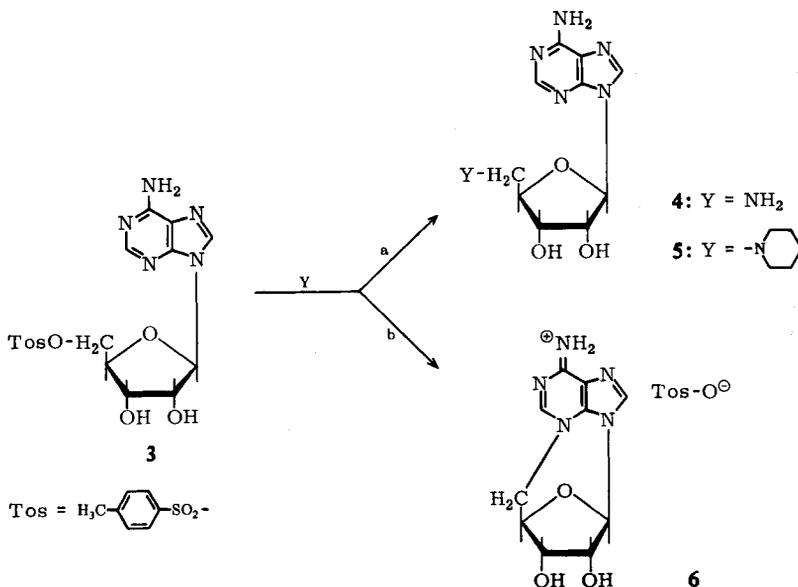


¹⁾ G. P. Moss, C. B. Reese, K. Schofield und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] 1963, 1149.

Isopropyliden-adenosin mit einem Überschuß an Kaliumpermanganat in wäßrig-alkalischer Lösung in 69proz. Ausbeute in 2'.3'-*O*-Isopropyliden-adenosin-5'-carbon-säure (**1**) umzuwandeln. Die Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe in wäßriger Salzsäure lieferte 96% **2**. Damit ist **2** bequem zugänglich.

Umwandlungsprodukte von 5'-*O*-Tosyl-adenosin (**3**)

Das von *Smith et al.*²⁾ erstmals erwähnte 5'-*O*-Tosyl-adenosin (**3**) wurde in der Zwischenzeit von *Schmidt und Huenekens*³⁾ aus 2'.3'-*O*-[*p*-Dimethylamino-benzyliden]-5'-*O*-tosyl-adenosin und von *Kuhn und Jahn*⁴⁾ aus 2'.3'-*O*-Isopropyliden-5'-*O*-tosyl-adenosin synthetisiert. **3** ermöglicht eine außerordentlich bequeme Synthese von Adenosyl-B₁₂³⁾. Durch Verwendung von 1*n* HCl bei 60° konnte nun die Iso-propylidengruppe im 2'.3'-*O*-Isopropyliden-5'-*O*-tosyl-adenosin schon nach sechs Min. praktisch quantitativ abgespalten und **3** in 95proz. Ausbeute analysenrein und frei von Cyclonucleosid erhalten werden.



Untersuchungen über den direkten nucleophilen Austausch der 5'-*O*-Tosylat-Gruppe von **3**, ohne nach *Jahn*⁵⁾ den Adeninrest durch Acylierung zu deaktivieren, zeigten ein grundsätzlich analoges Reaktionsverhalten wie bei 2'.3'-*O*-Isopropyliden-5'-*O*-tosyl-adenosin⁶⁾. Es besteht eine Konkurrenz zwischen dem intermolekularen Angriff des nucleophilen Reaktionspartners Y (Reaktionsweg a) und dem intra-

2) *E. L. Smith, L. Meroy, P. W. Muggleton, A. W. Johnson und H. Shaw*, Ann. New York Acad. Sci. **112**, 565 (1964).

3) *R. R. Schmidt und F. M. Huenekens*, Arch. Biochem. Biophysics **118**, 253 (1967).

4) *R. Kuhn und W. Jahn*, Chem. Ber. **98**, 1699 (1965).

5) *W. Jahn*, Chem. Ber. **98**, 1705 (1965).

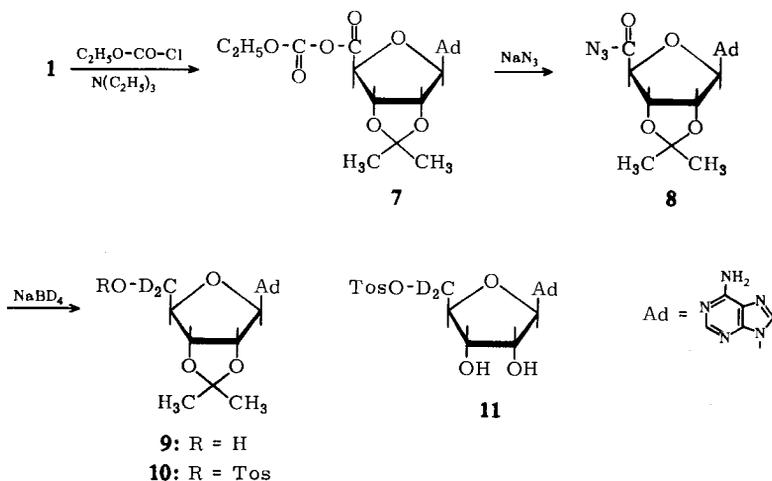
6) *V. M. Clark, A. R. Todd und J. Zussman*, J. chem. Soc. [London] **1951**, 2952.

molekularen Angriff des N-3-Atoms des Adenins (Reaktionsweg b) am 5'-C-Atom unter Cyclonucleosid-Bildung⁶⁾. Unter geeigneter Reaktionsführung gelingt es jedoch, einen direkten nucleophilen Austausch der Tosylatgruppe nach Reaktionsweg a durchzuführen und die unerwünschte Cyclonucleosidbildung im wesentlichen zu umgehen, wie es für 2'.3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosyl-adenosin bei der Umsetzung mit Mercaptiden bereits gezeigt wurde⁴⁾.

So konnte bei der Umsetzung von **3** in flüssigem Ammoniak 5'-Amino-5'-desoxyadenosin (**4**)⁵⁾ mit 87% Ausbeute erhalten werden. Die Verbindung wurde als Tosylat isoliert. Analog wurde bei der Umsetzung von **3** in Piperidin das 5'-Piperidino-5'-desoxyadenosin (**5**) erhalten. Hingegen lieferte Thioharnstoff in siedendem Äthanol nur das Cyclonucleosid (**6**). Offensichtlich ist unter den gewählten Reaktionsbedingungen die Nucleophilie des Thioharnstoffs für einen nucleophilen Austausch der Tosylatgruppe nicht ausreichend.

2'.3'-O-Isopropyliden-adenosin-5'.5'-d₂ (**9**)

Da die direkte Reduktion der Adenosin-5'-carbonsäure (**2**) bzw. der 2'.3'-O-Isopropyliden-adenosin-5'-carbonsäure (**1**) mit NaBD₄ zum entsprechenden Alkohol wegen der zu geringen Carbonyllaktivität der Carbonsäure nicht durchführbar ist⁷⁾, mußte versucht werden, eine entsprechende Aktivierung der Carbonylgruppe zu erreichen. Dies gelang durch intermediäre Umwandlung von **1** über 2'.3'-O-Isopropyliden-adenosin-5'-carbonsäure-kohlensäure-äthylester-anhydrid (**7**) in 2'.3'-O-Isopropyliden-5'-carbonsäure-azid (**8**) durch Austausch der Äthylcarbonat-Gruppe mit Natriumazid. Die Reduktion von **8** mit Natriumdeuteroboranat lieferte **9** mit 48% Ausbeute, bezogen auf eingesetztes **1**. Die Umwandlung von **1** in **9** wurde ohne Charakterisierung und Isolierung der Zwischenprodukte **7** und **8** durchgeführt.



⁷⁾ Organikum, S. 482f, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1965.

5'-O-Tosyl-adenosin-5'.5'-d₂ (11)

Die Synthese von 5'-O-Tosyl-adenosin-5'.5'-d₂ (11) folgte nun der entsprechenden Synthese von 5'-O-Tosyl-adenosin (3). Mit Toluolsulfochlorid in Pyridin wurde nach bewährtem Verfahren⁸⁾ das entsprechende 2'.3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosyl-adenosin-5'.5'-d₂ (10) hergestellt und dieses durch Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppe in 11 umgewandelt, analog wie bei der Synthese von 3. Die Ausbeuten und Eigenschaften der deuterierten Verbindungen 9, 10 und 11 stimmten mit denen der entsprechenden undeuterierten Verbindungen überein.

Versuche, die besondere Reaktivität der dargestellten Verbindungen festzustellen und die Anwendbarkeit der erfolgreichen Methoden auf andere Nucleoside auszuweiten, sind im Gange.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für eine Sachbeihilfe, der *Zellstoffabrik Waldhof (Mannheim)* für die Überlassung von Ausgangsmaterialien, Herrn Prof. Dr. H. *Bredereck* für die großzügige Förderung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

2'.3'-O-Isopropyliden-adenosin-5'-carbonsäure (1): 2.05 g (6.7 mMol) 2'.3'-O-Isopropyliden-adenosin wurden in 700 ccm Wasser in der Wärme gelöst und die Lösung auf Raumtemp. abgekühlt. Dann wurden unter Rühren 1.12 g (20 mMol) KOH und anschließend 4.29 g (27 mMol) Kaliumpermanganat innerhalb von 2 Stdn. zugegeben. Das Gemisch wurde anschließend 3 Tage bei Raumtemp. gerührt, das überschüss. KMnO₄ mit H₂O₂ zerstört, das Mangandioxid abfiltriert, die klare Lösung i. Vak. auf ungefähr 150 ccm eingeeengt und mit verd. Salzsäure bei 0° auf pH 4.6 eingestellt. 1 schied sich analysenrein aus. Es konnte aus viel Wasser umkristallisiert werden. Ausb. 1.50 g (69%), Schmp. 276° (Zers.).

C₁₃H₁₅N₅O₅ (321.3) Ber. C 48.59 H 4.71 N 21.80 Gef. C 48.60 H 4.75 N 21.47

Adenosin-5'-carbonsäure (2): 0.32 g 1 wurden bei 65° in 15 ccm 1 n HCl 20 Min. hydrolysiert. Anschließend wurde auf 20° abgekühlt und mit 2 n NaOH auf pH 4.0 eingestellt. 2 fiel als farblose Kristallmasse aus. Ausb. 0.27 g (96%), Schmp. >320°. Die Substanz stimmt mit einer nach *Todd et al.*¹⁾ synthetisierten Substanzprobe spektroskopisch und chromatographisch überein.

5'-O-p-Toluolsulfonyl-adenosin (3): 0.46 g (1.0 mMol) 2'.3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosyl-adenosin⁸⁾ wurden in 20 ccm 60° warmer 1 n HCl 6 Min. gehalten. Dann wurde mit Eis gekühlt, mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert, das Reaktionsprodukt abfiltriert und in wenig Methanol aufgenommen. Nach kurzer Zeit kristallisierte 3 analysenrein aus. Ausb. 0.40 g (95%), Schmp. 154–156°. Die Substanz stimmt chromatographisch und spektroskopisch überein mit einer nach *Schmidt et al.*³⁾ hergestellten Substanzprobe.

5'-Amino-5'-desoxy-adenosin (4): 0.42 g (1.0 mMol) 3 wurden in 5 ccm flüssigem Ammoniak in einem Bombenrohr 3 Tage bei Raumtemp. gehalten. Anschließend wurde das Ammoniak, zuletzt durch Evakuieren, verdampft und 4 praktisch quantitativ als Tosylat isoliert. Aus Äthanol Ausb. 0.36 g (87%), Schmp. 258–260° (Zers.).

C₁₀H₁₅N₆O₃]C₇H₇O₃S (438.5) Ber. C 46.56 H 5.06 N 19.17 Gef. C 46.60 H 5.10 N 18.99

⁸⁾ Biochem. Preparations 8, 5 (1961).

5'-Piperidino-5'-desoxy-adenosin (**5**): 0.42 g (1.0 mMol) **3** wurden in 4 ccm frisch dest. Piperidin gelöst. Nach 6 Stdn. wurde das Piperidin i. Vak. abgezogen, das hinterbleibende Öl mit Wasser/Äthanol/Ammoniak (5 : 5 : 2) an Kieselgel chromatographiert, die **5** enthaltene Fraktion eingengt, in wenig Äthanol aufgenommen, filtriert und das Lösungsmittel abgezogen. Es hinterblieb eine glasige, außerordentlich hygroskopische Substanz, die aus absol. Acetonitril umkristallisiert werden konnte, aber an der Luft sofort zerfloß. Ausb. 1.4 g (42%).

$C_{15}H_{22}N_6O_3$ (334.4) Ber. C 53.88 H 6.63 N 25.14 Gef. C 52.92 H 6.44 N 24.89

2',3'-O-Isopropyliden-adenosin-5'-d₂ (**9**): Zu einer Suspension von 0.32 g (1.0 mMol) **1** und 0.13 g (1.3 mMol) Triäthylamin in 100 ccm Aceton wurden unter Rühren und Eiskühlung 0.147 g (1.35 mMol) Chlorameisensäure-äthylester gegeben und noch 3 Stdn. bei dieser Temp. gehalten (Bildung von **7**). Dann gab man 0.089 g (1.37 mMol) Natriumazid in 1 ccm Wasser zu, rührte noch 2 Stdn. bei 0°, zog anschließend das Aceton ohne Erwärmen i. Vak. ab und entfernte den Rest Aceton durch dreimaliges Mischen des Rückstandes mit Äther und anschließendes Abziehen. Der Rückstand (**8**) wurde in Eiswasser suspendiert, rasch abfiltriert, dann zu einem Gemisch aus 20 ccm Wasser und 20 ccm Methanol gegeben und mit 0.053 g (1.4 mMol) Natriumtetradeuteroboranat (NaBD₄) versetzt. Es wurde noch 12 Stdn. gerührt, dann auf ungefähr 2 ccm eingengt. Bei 0° kristallisierte das Reaktionsprodukt analysenrein. Ausb. 0.15 g (48%). **9** stimmt chromatographisch und in Schmp. und Misch-Schmp. mit der entsprechenden undeuterten Verbindung überein.

Als Nachtr. b. d. Korr. (8. 12. 67): 3,5'-Adenosin-cyclonucleosid, p-Toluolsulfonat (**6**), bzw. Perchlorat: 0.21 g (0.5 mMol) **3** wurden in 20 ccm Dioxan 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt und nach dem Abkühlen das in Wasser leicht lösliche **6** abfiltriert. Eine für Tosylester charakteristische IR-Absorption bei 1180/cm verschwindet auf Kosten einer für ionogene Tosylate typischen IR-Absorption bei 1055/cm⁹⁾. Ausb. 0.20 g (95%), Schmp. 75–78°. Zur Analyse wurde **6** in wenig 95proz. Äthanol gelöst und mit Perchlorsäure ausgefällt. Umkristallisation aus Äthanol lieferte das Perchlorat in 81proz. Ausb. Schmp. 160–162°.

$C_{10}H_{12}N_5O_3ClO_4$ (349.7) Ber. C 34.34 H 3.46 N 20.02 Gef. C 34.06 H 3.55 N 19.11

⁹⁾ R. E. Holmes und R. K. Robins, J. org. Chemistry **28**, 3483 (1963).