

Frieder W. Lichtenthaler und Hans Peter Albrecht *)

Nucleoside, V¹⁾

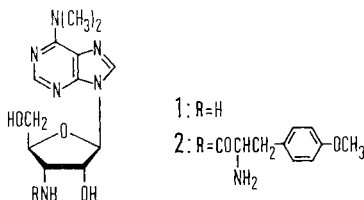
6-Dimethylamino-purin-Nucleoside der 3-Amino-3-desoxy- β -D-glucose, -mannose und -galaktose

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt

(Eingegangen am 30. August 1968)

Perjodat-Oxydation von 6-Dimethylamino-9- $[\beta$ -D-ribofuranosyl]-purin (4) und anschließende Nitromethan-Cyclisierung liefert ein Gemisch von 3'-Nitro-hexosyl-dimethylaminopurinen (75%), das durch fraktionierte Kristallisation in die *gluco*-, *manno*- und *galakto*-Isomeren (6–8) aufgetrennt wurde. Katalytische Hydrierung führt zu den entsprechenden 3'-Aminonucleosiden 9–11, deren Acetylierung zu den Tetraacetaten 12–14. Die Konfigurationszuordnungen erfolgten auf Grund NMR-spektroskopischer Daten sowie durch Identifizierung der bei saurer Hydrolyse von 9–11 gebildeten 3-Amino-zucker.

6-Dimethylamino-9-[3-amino-3-desoxy- β -D-ribofuranosyl]-purin (1) stellt den wesentlichen Bestandteil des Antibiotikums Puromycin (2)^{2–4)} dar und besitzt wie dieses antibakterielle und cytostatische Eigenschaften^{5–7)}.



Versuche, die pharmakologischen Eigenschaften zu verbessern, führten zur Synthese einer Reihe analoger Verbindungen^{8,9)}, wobei fast durchweg am Prinzip, daß

*) Aus der Dissertat. H. P. Albrecht, Techn. Hochschule Darmstadt 1967.

1) IV. Mittel.: F. W. Lichtenthaler und H. P. Albrecht, Angew. Chem. 80, 440 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 457 (1968).

2) J. N. Porter, R. I. Hewitt, C. W. Hesseltine, G. Krupka, J. A. Lowery, W. S. Wallace, N. Bohonos und J. H. Williams, Antibiotics and Chemotherapy 2, 409 (1952).

3) C. W. Waller, P. W. Fryth, B. L. Hutchings und J. H. Williams, J. Amer. chem. Soc. 75, 2025 (1953).

4) B. R. Baker, J. P. Joseph und J. H. Williams, J. Amer. chem. Soc. 77, 1 (1955).

5) B. L. Hutchings in E. W. Westenhalm und C. M. O'Connor, Ciba Foundation Symposium on the Chemistry and Biology of Purines, S. 177, Churchill Ltd., London 1957.

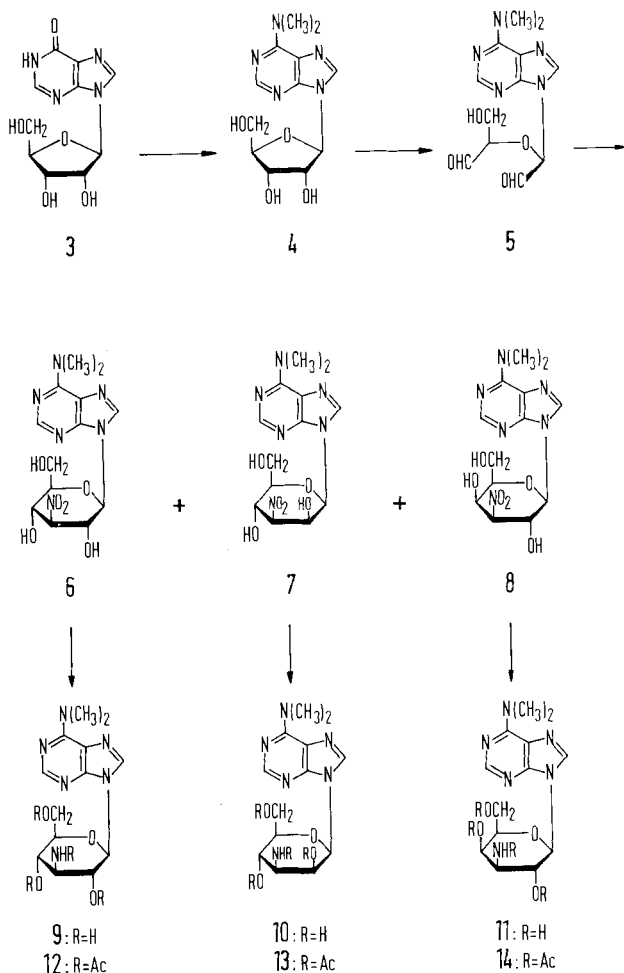
6) U. C. Dubach, Fortschr. Arzneimittelforschung 7, 341 (1964).

7) D. Nathans in D. Gottlieb und P. D. Shaw, Antibiotics, Vol. 1, S. 259, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York 1967.

8) J. J. Fox und I. Wempen, Advances Carbohydrate Chem. 14, 283 (1959).

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

die biologische Aktivität an das Vorhandensein einer Aminopentofuranose-Einheit geknüpft ist⁵⁾, festgehalten wurde. Nachdem neuerdings eine ganze Reihe von Aminonucleosid-Antibiotika, die sich von Aminopyranosen ableiten, bekannt geworden sind¹⁰⁾, schien es uns interessant, Analoga von **1** zu synthetisieren, bei denen die 3-Amino-ribose-Einheit durch einen 3-Amino-hexosyl-Rest ersetzt ist.



Ein einfacher Weg zur Synthese von Verbindungen dieses Typs ergab sich in der Anwendung der Reaktionsfolge Perjodatoxydation, Nitromethan-Cyclisierung, Hydrierung¹¹⁾ auf das aus Inosin (**3**) gut zugängliche¹²⁾ 6-Dimethylamino-9- $[\beta$ -D-ribofuranosyl]-purin (**4**), worüber vorliegende Arbeit berichtet.

¹⁰⁾ J. J. Fox, K. A. Watanabe und A. Bloch, *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* **5**, 251 (1966).

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

¹²⁾ J. Žemlička und F. Šorm, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* **30**, 1880, 2025 (1965).

Oxydation des *ribo*-Nucleosids **4** mit Natriummetaperjodat in wäßriger Lösung lieferte in glatter Reaktion (3 Stdn. 25°) den entsprechenden „Nucleosid-dialdehyd“, 2-*O*-[(*R*)-Formyl-(6-dimethylamino-purinyl(9))-methyl]-(*R*)-glycinaldehyd (**5**)¹³, als Sirup, der mit Nitromethan/Natriummethylat in Methanol (3 Stdn. 0°, 1 Stde. 25°) zu einem kristallinen 3'-Nitro-hexosyl-purin-Gemisch cyclisiert wurde (Ausb. 75%). Dünnschichtchromatographisch ließen sich hierin drei Isomere nachweisen, und zwar die 6-Dimethylamino-9-[3-nitro-3-desoxy-β-D-hexopyranosyl]-purine mit *gluco*- (**6**), *manno*- (**7**) und *galakto*-Konfiguration (**8**). Ihre Reindarstellung gelang durch wiederholte fraktionierte Kristallisation aus Methanol/Wasser (3:2) bzw. Methanol in Ausbeuten von 23 (**6**), 15 (**7**) und 8% (**8**), jeweils bezogen auf **4**.

Katalytische Hydrierung der Nitroverbindungen **6–8** über 10proz. Palladium/Kohle in absol. Methanol lieferte die entsprechenden Aminonucleoside **9–11** in kristalliner, dünnschichtchromatographisch reiner Form. Die Ausbeuten betragen 85–90%, so daß eine infolge des basisch werdenden Reaktionsmediums mögliche Epimerisierung¹⁴ an den der Nitrogruppe benachbarten C-Atomen nur in sehr untergeordnetem Ausmaß, wenn überhaupt, eingetreten sein kann.

Acetylierung der Aminoverbindungen **9–11** mit Pyridin/Acetanhydrid (1:1) ergab die entsprechenden Tetraacetate **12–14**, wobei nur die *gluco*-Verbindung (**12**) kristallisiert erhalten wurde.

Die Konfiguration der Nitroverbindungen **6–8** sowie ihrer Folgeprodukte **9–14** ließ sich durch folgende Befunde sicherstellen:

1. Die drei erhaltenen 6-Dimethylamino-9-[3-amino-3-desoxy-β-D-hexopyranosyl]-purine (**9–11**) wurden mit 5*n* HCl (8 Stdn., 100°) hydrolysiert und die hierbei entstandenen 3-Amino-zucker papierchromatographisch¹⁵ identifiziert. Im Hydrolysat des *gluco*-Isomeren (**9**) ließ sich 3-Amino-3-desoxy-D-glucose auf Grund des R_{Gm} -Wertes¹⁷, der Farbänderung nach Besprühen mit Ninhydrin^{17a}) sowie durch Vergleich mit einer authentischen Probe eindeutig charakterisieren. Analog konnten in den Hydrolysaten von **10** und **11** 3-Amino-3-desoxy-D-mannose und 3-Amino-3-desoxy-D-galaktose nachgewiesen werden.

2. Die molaren Drehwerte der drei 6-Dimethylamino-purin-Nucleoside **9–11** stimmen gut mit den für die konfigurations-analogen Adenin-Nucleoside gefundenen¹⁸ überein (vgl. Tabelle).

¹³ Zur Nomenklatur vgl. F. W. Lichtenthaler, T. Nakagawa und J. Yoshimura, Chem. Ber. **100**, 1833 (1967), Fußnote³²).

¹⁴ F. W. Lichtenthaler, Chem. Ber. **94**, 3071 (1961); H. H. Baer, J. Amer. chem. Soc. **84**, 83 (1962); H. H. Baer und A. Ahammad, Canad. J. Chem. **41**, 2931 (1963).

¹⁵ Papierchromatographie absteigend auf Papier Schleicher & Schüll 2043 b. Laufmittel: Pyridin/Essigester/Eisessig/Wasser (5:5:1:3) mit Pyridin/Essigester/Wasser (11:40:6) als Bodenflüssigkeit¹⁶. Wanderungsgeschwindigkeit R_{Gm} bezogen auf Glucosaminhydrochlorid. Entwicklung mit Ninhydrin.

¹⁶ F. G. Fischer und H. Dörfel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 224 (1955).

¹⁷ I. c.¹³, Fußnote⁴⁰).

^{17a} I. c.¹³, S. 1843.

¹⁸ J. Beránek, H. A. Friedman, K. A. Watanabe und J. J. Fox, J. heterocycl. Chem. **2**, 188 (1965).

Vergleich der molaren Drehwerte von 3'-Amino-3'-desoxy- β -D-hexopyranosyl-Nucleosiden des Adenins und 6-Dimethylamino-purins

Konfiguration des 3-Amino-zuckers	Nucleobase	
	Adenin ¹⁸⁾ [M] _D	6-Dimethylamino-purin [M] _D
<i>gluco</i>	— 300	— 3 200 (9)
<i>manno</i>	+ 13 200	+ 15 200 (10)
<i>galakto</i>	+ 8 000	+ 8 100 (11)

3. Die für die einzelnen Verbindungen gefundenen NMR-Daten stehen mit den vorgenommenen Zuordnungen im Einklang. Sehr informativ sind hierbei die scharfen CH₃-Resonanzen der Acetyl-Gruppen im Falle der Tetraacetate **12**–**14**, aus deren Signallage sich Konformation und Konfiguration zwanglos ablesen lassen¹⁹⁾. Die Multipllett-Aufspaltung der Ringprotonen ist bei 60 MHz nicht vollständig, so daß nur anhand einzelner konformative Deduktionen möglich waren (vgl. Versuchsteil). In jedem Fall jedoch bestätigten sie die anhand der Acetyl-Resonanzen vorgenommenen Zuordnungen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und der Fa. C. F. Boehringer & Soehne GmbH, Mannheim, sind wir für finanzielle Unterstützung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf einem elektrisch beheizten Bock-Monoscop bestimmt und sind nicht korrigiert. Zur Aufnahme der IR-Spektren diente ein Perkin-Elmer Gitterspektrometer 125, die NMR-Spektren wurden auf einem Varian A 60-Gerät unter Verwendung von Tetramethylsilan als innerem Standard aufgenommen.

1. 2-O-[(*R*)-Formyl-(6-dimethylamino-purinyl-(9))-methyl]-(*R*)-glyceraldehyd (**5**): 11.0 g (37 mMol) 6-Dimethylamino-9- $[\beta$ -D-ribofuranosyl]-purin (**4**)¹²⁾ wurden teilweise zu einer eisgekühlten, gerührten Lösung von 7.90 g (37 mMol) Natriummetaperjodat in 200 ccm Wasser gegeben und die Lösung 3 Stdn. bei Raumtemp. im Dunkeln stehengelassen. Die wäßr. Lösung wurde anschließend i. Vak. (40° Badtemp.) auf die Hälfte eingeeengt und mit 300 ccm Methanol versetzt. Vom ausgefallenen Natriumjodat wurde abfiltriert, das Filtrat auf ca. 50 ccm eingeeengt, erneut mit 300 ccm Methanol versetzt und abfiltriert. Die methanol. Lösung des Dialdehyds wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft: 11.6 g **5** (methanolhaltig); $[\alpha]_D^{20}$: -21.5° ($c = 0.9$, in Wasser)²⁰⁾ (Lit. 21): $[\alpha]_D^{20}$: -20°).

2. Nitromethan-Cyclisierung von **5** zu einem Gemisch von 6-Dimethylamino-9-[3-nitro-3-desoxy- β -D-hexopyranosyl]-purinen: Zu 11.6 g **5** in 400 ccm Methanol wurden unter Eiskühlung und Rühren erst 2.1 ccm Nitromethan (39 mMol) und dann im Verlauf von etwa 30 Min. 37 ccm einer *n* Natriummethylat-Lösung gegeben. Die Lösung wurde 3 Stdn. bei 0°, anschließend eine weitere Stde. bei Raumtemp. stehengelassen und nach Neutralisation

¹⁹⁾ F. W. Lichtenhaler, G. Bambach und P. Emig, Chem. Ber. **102**, 994 (1969).

²⁰⁾ Die spezifische Drehung wurde in einem gesonderten Ansatz unter der Annahme, daß die Reaktion quantitativ verläuft, bestimmt.

²¹⁾ H. M. Kissman, C. Fidacks und B. R. Baker, J. Amer. chem. Soc. **77**, 18 (1955).

mit schwach saurem Ionenaustauscher (Merck IV), der vorher mit Wasser/Methanol (1:1) gewaschen worden war, i. Vak. (40° Badtemp.) zur Trockne eingedampft. Behandeln mit Wasser gab einen kristallinen Niederschlag. Zur Vervollständigung der Fällung wurde über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt, anschließend abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen i. Hochvak. bei Raumtemp. 9.8 g Isomerengemisch (75%, bez. auf **4**). Dünnschichtchromatographisch²²⁾ waren nach Dreifachentwicklung drei Isomere (**6**, **7** bzw. **8**) nachweisbar.

3. Fraktionierte Kristallisation²³⁾

a) *6-Dimethylamino-9-[3-nitro-3-desoxy-β-D-mannopyranosyl]-purin (7)*: Das Isomerengemisch (s. oben) wurde in der gerade erforderlichen Menge heißem Methanol/Wasser (3:2) gelöst und der nach 4stdg. Stehenlassen ausgefallene Niederschlag abgesaugt (Mutterlauge: „Filtrat A“). Das Rohprodukt (2.0 g) war nach dem Dünnschichtchromatogramm²³⁾ noch mit Spuren von **6** und **8** verunreinigt, die durch zweimalige Umkristallisation aus Methanol entfernt wurden: 1.50 g (15%, bez. auf **4**); Schmp. 152–154° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: +84° ($c = 0.25$, in Methanol).

NMR (DMSO- d_6 + CF₃CO₂H): τ 3.95 (1H-d mit $J = 2$ Hz, H^{1'}); 4.87 (1H-q mit $J_{a,e} = 3$ und $J_{a,a} = 9$ Hz, H^{3'}); 6.60 (6H-s, N(CH₃)₂).

C₁₃H₁₈N₆O₆ (354.3) Ber. C 44.06 H 5.12 N 23.72 Gef. C 43.95 H 5.36 N 23.58

b) *6-Dimethylamino-9-[3-nitro-3-desoxy-β-D-galaktopyranosyl]-purin (8)*: Die nach Abtrennen von **7** verbliebene Mutterlauge („Filtrat A“) wurde auf 60 ccm eingengt und über Nacht bei 0° aufbewahrt. Die hierbei ausgeschiedenen Kristalle wurden abgesaugt: 3.1 g eines Gemisches der Isomeren **6** und **8** mit Spuren an **7** (Mutterlauge: „Filtrat B“, s. unten). Durch Umkristallisation aus Methanol ließ sich das Gemisch in zwei Fraktionen trennen: Die erste, in Methanol schwererlösliche (1.1 g) enthielt **7** und **8** im Verhältnis 1:2 und konnte durch weitere fraktionierte Kristallisationen nicht in die reinen Isomeren zerlegt werden. Die zweite Fraktion (1.8 g) enthielt kein **7** mehr und bestand aus **6** und **8** im Verhältnis 3:1. Durch zwei weitere Umkristallisationen aus Methanol erhielt man 810 mg (8%, bez. auf **4**) dünn-schichtchromatographisch²²⁾ reines **8** vom Schmp. 162–165° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: –11° ($c = 0.5$, in Methanol).

C₁₃H₁₈N₆O₆ (354.3) Ber. C 44.06 H 5.12 N 23.72 Gef. C 44.18 H 5.19 N 23.60

c) *6-Dimethylamino-9-[3-nitro-3-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-purin (6)*: „Filtrat B“ enthielt (Dünnschichtchromatogramm²²⁾) überwiegend **6**. Nach Stehenlassen für einige Tage bei 0° hatten sich 3.0 g fast reines Produkt ausgeschieden. Durch zwei weitere Kristallisationen aus Methanol, wobei zur Vervollständigung der Fällung jeweils mehrere Tage im Kühlschrank stehengelassen wurde, erhielt man 2.3 g kristallines, chromatographisch einheitliches **6** (23%, bez. auf **4**); Schmp. 202–204° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: –13° ($c = 0.6$, in Methanol).

NMR (DMSO- d_6 + CF₃CO₂H): τ 4.35 (1H-d mit $J_{a,a} = 9$ Hz, H^{1'}).

C₁₃H₁₈N₆O₆ (354.3) Ber. C 44.06 H 5.12 N 23.72 Gef. C 44.18 H 5.19 N 23.48

²²⁾ Sämtliche Dünnschichtchromatogramme wurden aufsteigend auf Kieselgel HF₂₅₄₊₃₆₆ (E. Merck AG, Darmstadt) mit n-Butylacetat/Essigsäure/Wasser (110:32:10) als Fließmittel ausgeführt. Für eine ausreichende Trennung war allgemein Dreifachentwicklung erforderlich.

²³⁾ Es ist erforderlich, die Trennung der einzelnen Isomeren dünn-schichtchromatographisch zu verfolgen. Bei Dreifachentwicklung an einer 20-cm-Platte²²⁾ sind die drei Nitro-Nucleoside scharf voneinander getrennt in der Reihenfolge **8**, **7**, **6** vom Start.

4. Hydrierung der 3'-Nitro-Nucleoside

6-Dimethylamino-9-[3-amino-3-desoxy- β -D-mannopyranosyl]-purin (**10**): Zu einer vorhydrierten Suspension von 500 mg 10proz. Palladium/Kohle in 300 ccm absol. Methanol wurden 500 mg **7** gegeben und die Hydrierung fortgesetzt. Nach Aufnahme der ber. Menge H_2 (106 ccm) wurde vom Katalysator abfiltriert und mehrmals mit Methanol gewaschen. Nach Eindampfen der Filtrate i. Vak. und Nachdampfen mit absol. Äthanol blieb eine farblose feste Substanz zurück: 390 mg (85%) vom Schmp. 135–137°; $[\alpha]_D^{20}$: +47° ($c = 0.45$, in Methanol).

$C_{13}H_{20}N_6O_4$ (324.3) Ber. C 48.14 H 6.22 N 25.91 Gef. C 47.83 H 6.14 N 25.80

6-Dimethylamino-9-[3-amino-3-desoxy- β -D-galaktopyranosyl]-purin (**11**): Ausgehend von 350 mg **8** wurden, wie vorstehend beschrieben, 290 mg (90%) **11** erhalten. Schmp. 148–150°; $[\alpha]_D^{20}$: +25° ($c = 0.45$, in Methanol).

$C_{13}H_{20}N_6O_4$ (324.3) Ber. C 48.14 H 6.22 N 25.91 Gef. C 48.31 H 6.34 N 25.61

6-Dimethylamino-9-[3-amino-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-purin (**9**): Zu einer vorhydrierten Suspension von 800 ccm absol. Methanol und 2.5 g 10proz. Palladium/Kohle wurden 2.0 g **6** gegeben und die Hydrierung bis zur Aufnahme der ber. Menge H_2 (430 ccm) fortgesetzt. Es wurde vom Katalysator abfiltriert, mehrmals gut mit Methanol nachgewaschen und die vereinigten Filtrate i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der farblose feste Rückstand (1.6 g, 87%) wurde in wenig heißem Methanol aufgenommen und 3 Tage bei 0° stehengelassen: 1.2 g (65%) dünn-schichtchromatographisch reines **9** vom Schmp. 145–147°; $[\alpha]_D^{20}$: –10° ($c = 0.45$, in Methanol).

$C_{13}H_{20}N_6O_4$ (324.3) Ber. C 48.14 H 6.22 N 25.91 Gef. C 48.04 H 6.27 N 25.93

Saure Hydrolyse der Aminohexosyl-dimethylaminopurine; Papierchromatographische Identifizierung der 3-Amino-zucker: 50 mg der Aminonucleoside **9**, **10** und **11** wurden jeweils mit 5 ccm 5*N* HCl 8 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt. Das Hydrolysat dampfte man unter wiederholter Zugabe von Wasser i. Vak. zur Trockne ein. Es wurde jeweils ein brauner, Fehlingsche Lösung reduzierender Sirup erhalten, der papierchromatographisch¹⁵⁾ untersucht wurde.

3-Amino-3-desoxy-D-mannose (aus **10**): R_{Gm} 1.13 (Lit.^{17a}): 1.13). Farbänderung nach Besprühen des Chromatogramms mit Ninhydrin von Gelbbraun über Braungrau nach Grauviolett.

3-Amino-3-desoxy-D-galaktose (aus **11**): R_{Gm} 0.92 (Braungrau → Grauviolett; Lit.^{17a}): R_{Gm} 0.94).

3-Amino-3-desoxy-D-glucose (aus **9**): R_{Gm} 1.04 (Gelbbraun → Grauviolett; Lit.: 1.07^{17a}) bzw. 1.05²⁴⁾).

5. Peracetylierung der Aminohexosyl-dimethylaminopurine

300 mg **9**, **10** bzw. **11** wurden mit 10 ccm Acetanhydrid|Pyridin (1:1) 6 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Zerstören des überschüss. Acetanhydrids mit 10 ccm absol. Äthanol i. Vak. (40° Badtemp.) engte man zur Trockne ein und dampfte mehrmals mit Äthanol nach. Hierbei kristallisierte nur die *gluco*-Verbindung (**12**). Die Tetraacetate der *manno*- und *galakto*-

²⁴⁾ H. H. Baer, J. Amer. chem. Soc. **84**, 83 (1962).

Isomeren (**13** bzw. **14**) wurden jeweils in Form eines farblosen, amorphen Produktes erhalten, das dünn-schichtchromatographisch einheitlich war.

NMR (DMSO- d_6): **13**: CH_3CO τ 7.96 (3) und 8.22; **14**: 7.80, 8.05, 8.22 und 8.30.

6-Dimethylamino-9-[3-acetamino-2.4.6-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-purin (**12**): Ausb. 240 mg (75 %) aus Äthanol. Schmp. 235—237°; $[\alpha]_D^{20}$: -43° ($c = 0.55$, in Methanol).

NMR (DMSO- d_6): τ 4.00 (1 H-d mit $J = 9$ Hz, H^1); 8.00, 8.03, 8.25 und 8.31 (vier 3H-s, COCH_3).

$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_8$ (492.5) Ber. C 51.21 H 5.73 N 17.07 Gef. C 51.38 H 5.88 N 17.13

[408/68]