

Wilfried A. König, Karl Zech, Rainer Uhmann und Wolfgang Voelter

Massenspektrometrische Untersuchung von Analogen des Adenosins

Aus dem Chemischen Institut der Universität Tübingen

(Eingegangen am 16. September 1971)

Die Massenspektren von 23 trifluoracetylierten Adenosin-Analoga (1–23), die sich in ihrem Zuckeranteil unterscheiden, weisen bei α - und β -Anomeren charakteristische Intensitätsunterschiede beim Molekül-Ion sowie bei den Fragment-Ionen m/e 310 und 424 (bei Pentose-Derivaten) bzw. m/e 550 und 680 (bei Hexose-Derivaten) auf. Die Intensitätsunterschiede lassen sich durch sterische Effekte erklären. Die Orientierung der Hydroxylgruppen beeinflusst die Fragmentierung nicht in dem Maße, daß eine systematische Zuordnung möglich ist. Für die Identifizierung der Konformationsisomeren ist die Aufnahme von Vergleichsspektren nötig. Die Ringgröße der Zucker ist durch das Auftreten von einzigartigen, allerdings wenig intensiven Fragment-Ionen bei m/e 524 und 410 (bei Furanosiden der Pentose-Derivate), m/e 524 und 295 (bei Furanosiden der Hexose-Derivate) und m/e 508 und 433 (bei Pyranosiden der Hexose-Derivate) erkennbar. Substitution an C-1' ist bei Hexose-Derivaten durch die Ionen m/e 496 und 386 gekennzeichnet.

Mass Spectrometry of Adenosine Analogues

The mass spectra of 23 trifluoroacetylated analogues of adenosine differing in the sugar moiety are investigated. The α - and β -anomers show characteristic intensity differences in the molecular ion and in the fragment ions m/e 310 and 424 (in pentose derivatives) as well as in m/e 550 and 680 (in hexose derivatives). The intensity differences can be explained by steric effects. The orientation of the hydroxyl groups does not influence the fragmentation process to such a degree that it is possible to draw systematic conclusions. For the identification of conformational isomers it is necessary to measure reference spectra. The ring size of the sugar is indicated by unique but low intensity fragments at m/e 524 and 410 (in furanosides of pentose derivatives), m/e 524 and 295 (in furanosides of hexose derivatives) as well as at m/e 508 and 433 (in pyranosides of hexose derivatives). Substitution at C-1' in hexose derivatives is indicated by ions at m/e 496 and 386.

Durch Anwendung der in der zweiten Hälfte dieses Jahrhunderts entwickelten Methoden zur Strukturanalyse, wie Circular dichroismus^{1,2}, magnetischer Circular-

¹) D. W. Miles, R. K. Robins und H. Eyring, Proc. nat. Acad. Sci. USA 57, 1138 (1967).

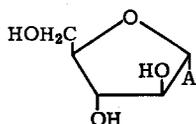
²) D. W. Miles, R. K. Robins und H. Eyring, J. phys. Chem. 71, 3931 (1967).

dichroismus^{3,4}), Protonenresonanz^{5,6}), ¹³C-Resonanz^{7,8}) und Massenspektrometrie^{9–12}) erhalten wir mehr und mehr Einblick in die Verbindungsklasse der Nucleoside. Besonders die Massenspektrometrie ist wegen des äußerst geringen Substanzbedarfs zur Untersuchung von Naturstoffen sehr geeignet. Die Aufnahme von Massenspektren freier Nucleoside ist allerdings durch die geringe Flüchtigkeit dieser Verbindungsklasse sehr begrenzt¹¹). Methoden zur Bildung von Derivaten wie Trimethylsilylierung¹⁰), Permethylierung¹³) und Trifluoracetylierung¹⁴) haben sich zur Erhöhung der Flüchtigkeit besonders bewährt. Da die Massenspektren der Trifluoracetyl-derivate besonders informativ und einfach interpretierbar sind¹³), haben wir in dieser Arbeit trifluoracetylierte Nucleoside untersucht. Die Acylierung ist einfach durchzuführen (vgl. exp. Teil) und verläuft in sehr guten Ausbeuten. Von weiterem Vorteil ist, daß die Trifluoracetyl-derivate außer mit ¹H- und ¹³C- auch mit ¹⁹F-Resonanz untersucht werden können¹⁵). In dieser Arbeit wird besonders untersucht, inwieweit konformative und konformative Variationen im Zuckerrest von Adenin-Nucleosiden die Fragmentierung im Massenspektrum beeinflussen.

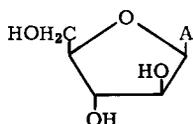
Es werden zwei Gruppen von Adenosin-Analogen untersucht. In Gruppe I (1–11) ist Adenin mit einer Pentose, in Gruppe II (12–23) mit einer Hexose *N*-glykosidisch verknüpft. Die Zuckerreste in beiden Gruppen liegen teils in der Furanoseform, teils in der Pyranoseform vor.

Da sämtliche hier untersuchten Nucleoside als Base (B) den Adeninrest enthalten, treten bei allen Spektren dieselben aus der Fragmentierung des Adeninrests resultierenden Bruchstücke auf. Die Fragmentierung von Purinen ist in einigen Arbeiten beschrieben worden^{16–20}). Charakteristisch für den trifluoracetylierten Adeninrest sind bei allen untersuchten Derivaten die mit hoher Intensität auftretenden Massen $B + H$ (m/e 231) und $B + 2 H$ (m/e 232). Aus der Abspaltung eines CF_3 -Radikals

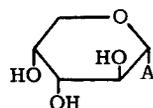
- 3) *W. Voelter, R. Records, E. Bunnenberg und C. Djerassi*, J. Amer. chem. Soc. **90**, 6163 (1968).
- 4) *W. Voelter, G. Barth, R. Records, E. Bunnenberg und C. Djerassi*, J. Amer. chem. Soc. **91**, 6165 (1969).
- 5) *C. D. Jardetzky und O. Jardetzky*, J. Amer. chem. Soc. **81**, 222 (1959).
- 6) *C. D. Jardetzky*, J. Amer. chem. Soc. **82**, 229 (1960).
- 7) *A. J. Jones, D. M. Grant, M. W. Winkley und R. K. Robins*, J. Amer. chem. Soc. **92**, 4079 (1970).
- 8) *E. Breitmaier, G. Jung und W. Voelter*, Angew. Chem. **83**, 659 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. **10**, 673 (1971).
- 9) *K. Biemann und J. A. McCloskey*, J. Amer. chem. Soc. **84**, 2005 (1962).
- 10) *J. A. McCloskey, A. M. Lawson, K. Tsuboyama, P. M. Krueger und R. N. Stillwell*, J. Amer. chem. Soc. **90**, 4182 (1968).
- 11) *S. M. Hecht, A. S. Gupta und N. J. Leonard*, Analyt. Biochem. [New York] **30**, 249 (1969).
- 12) *S. J. Shaw, D. M. Desiderio, K. Tsuboyama und J. A. McCloskey*, J. Amer. chem. Soc. **92**, 2510 (1970).
- 13) *J. J. Dolhun und J. L. Wiebers*, Org. Mass Spectrometry **3**, 669 (1971).
- 14) *W. A. König, L. C. Smith, P. F. Crain und J. A. McCloskey*, Biochemistry, im Druck.
- 15) *G. Jung, W. Voelter und E. Breitmaier*, Biochemische Analytik 1970, S. 15, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970.
- 16) *G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann*, Mh. Chem. **93**, 632 (1962).
- 17) *J. S. Shannon und D. S. Latham*, New Zealand J. Sci. **9**, 833 (1966).
- 18) *J. M. Rice und G. O. Dudek*, J. Amer. chem. Soc. **89**, 2719 (1967).
- 19) *J. Heiss, K.-P. Zeller und W. Voelter*, Org. Mass Spectrometry **3**, 181 (1970).
- 20) *W. Voelter, H. Bauer und K.-P. Zeller*, Z. Naturforsch., im Druck.



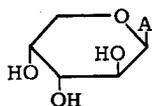
1 9- α -D-Arabinofuranosyl-adenin



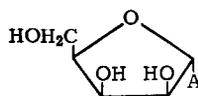
2 9- β -D-Arabinofuranosyl-adenin



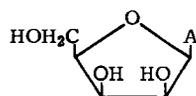
3 9- α -D-Arabinopyranosyl-adenin



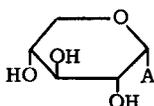
4 9- β -D-Arabinopyranosyl-adenin



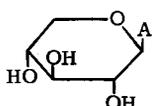
5 9- α -D-Lyxofuranosyl-adenin



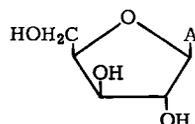
6 9- β -D-Lyxofuranosyl-adenin



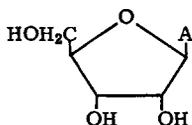
7 9- α -D-Xylopyranosyl-adenin



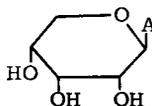
8 9- β -D-Xylopyranosyl-adenin



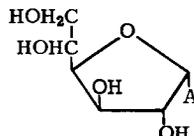
9 9- β -D-Xylofuranosyl-adenin



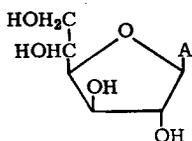
10 9- β -D-Ribofuranosyl-adenin



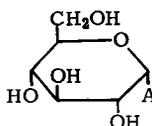
11 9- β -D-Ribopyranosyl-adenin



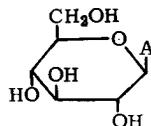
12 9- α -D-Glucufuranosyl-adenin



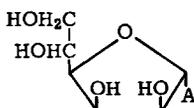
13 9- β -D-Glucufuranosyl-adenin



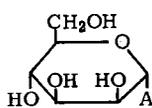
14 9- α -D-Glucopyranosyl-adenin



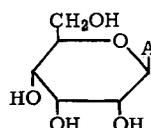
15 9- β -D-Glucopyranosyl-adenin



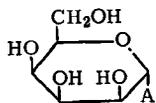
16 9- α -D-Mannofuranosyl-adenin



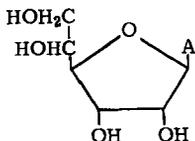
17 9- α -D-Mannopyranosyl-adenin



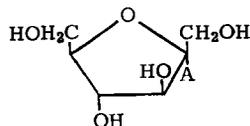
18 9- β -D-Allopyranosyl-adenin



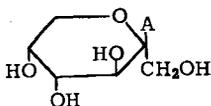
19 9- α -D-Talopyranosyl-adenin



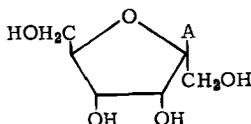
20 9- β -D-Gulofuranosyl-adenin



21 9- α -D-Fructofuranosyl-adenin



22 9- β -D-Fructopyranosyl-adenin



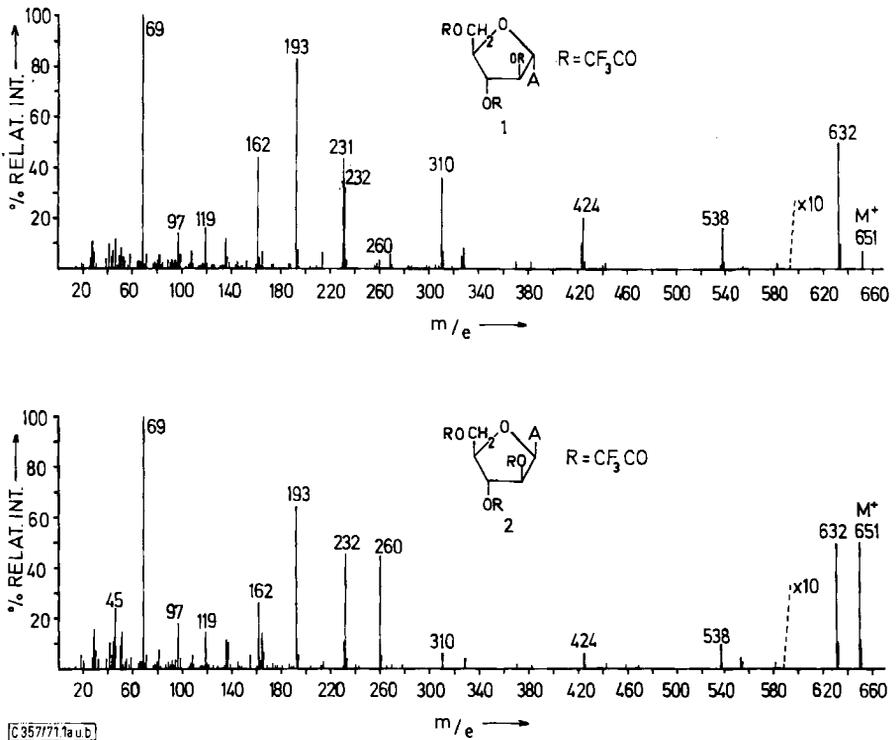
23 9- β -D-Psicofuranosyl-adenin

aus B + H (m/e 231) resultiert ein Ion der Masse 162. Allen Derivaten gemeinsam ist auch das Auftreten eines Molekül-Ions der Masse 651 bzw. 777 bei Pentose- bzw. Hexose-Derivaten, wobei die relative Intensität zwischen 0.2 und 10.5% schwankt. Aus dem Molekül-Ion leitet sich eine Serie von charakteristischen Fragmenten ab, die durch Abspaltung von verschiedenen großen Bruchstücken des Trifluoracetylrests entstehen. Die wichtigsten dieser Bruchstücke sind in Tab. 1 aufgeführt.

Tab. 1. Molekül-Ion und daraus ableitbare Fragment-Ionen bei trifluoracetylierten Pentose- und Hexose-Derivaten des Adenins

Ion	Pentose-Derivate m/e	Hexose-Derivate m/e
M^+	651	777
$(M-F)^+$	632	758
$(M-CF_3)^+$	582	708
$(M-CF_3CO)^+$	554	680
$(M-CF_3CO_2)^+$	538	664
$(M-(CF_3CO_2H + CF_3CO_2))^+$	424	550
$(M-(2 CF_3CO_2H + CF_3CO_2))^+$	310	436

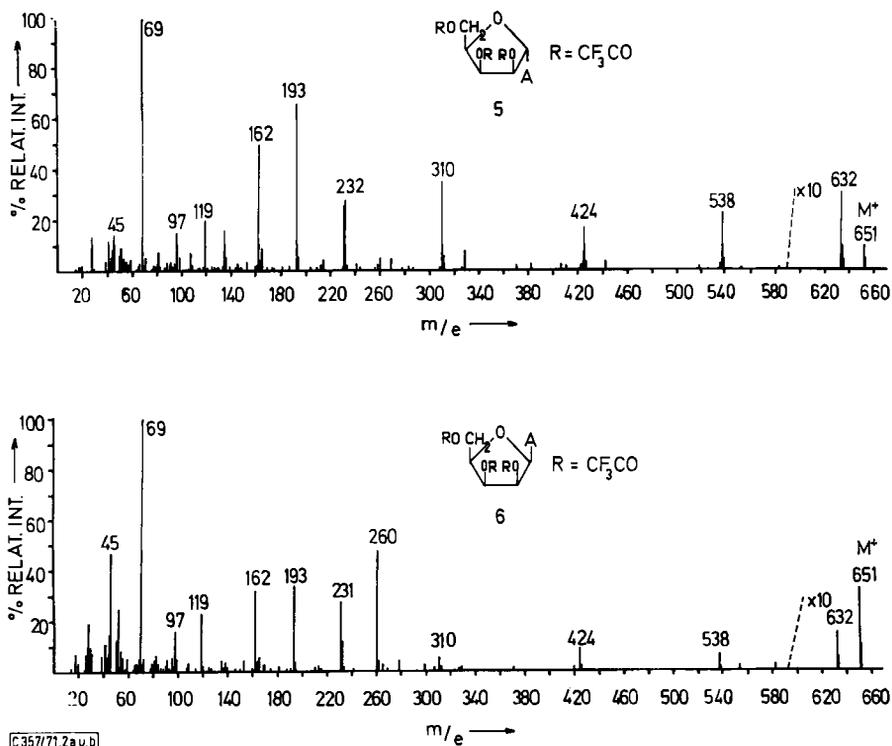
Vergleichen wir zunächst die in den Abbild. 1 und 2 dargestellten α - und β -Anomerenpaare. Hier fallen charakteristische Intensitätsunterschiede bei einer Reihe von Ionen auf. Das Molekül-Ion scheint bei den β -Anomeren wesentlich stabiler zu sein als bei den α -Anomeren. Dagegen tritt das durch Verlust von 2 CF_3CO_2H -Molekülen und eines CF_3CO_2 -Restes entstehende Ion der Masse 310 (vgl. Tab. 1) bei α -Anomeren (36 bzw. 35% relat. Int.) mit wesentlich höherer Intensität auf als bei den entsprechenden β -Anomeren (7.5 bzw. 5.5% relat. Int.). Dieselbe Tendenz ist beim Ion der Masse 424 zu erkennen. Der Zerfall der α -Anomeren durch Verlust von Trifluoracetylgruppen ist sicherlich wegen der sterischen Behinderung zwischen Purinsystem und Trifluoracetylgruppen besonders begünstigt.



Abbild. 1. Vergleich der Massenspektren von trifluoracetyliertem 9- α -D-Arabinofuranosyladenin (1) und 9- β -D-Arabinofuranosyladenin (2)

Analoge Beobachtungen wurden bei den in Abbild. 3 dargestellten Glucosiden gemacht. Auch hier ist die relative Intensität des Molekül-Ions bei den α -Anomeren (0.7 bzw. 0.3% relat. Int.) wesentlich geringer als bei den entsprechenden β -Anomeren (2.8 bzw. 6.5%). Ebenso auffallend sind die Intensitätsunterschiede beim Ion der Masse 550, das aus der Abspaltung von CF_3CO_2 und CF_3CO_2H resultiert. Dieses Ion ist bei den α -Anomeren um den Faktor von etwa 3 intensiver als bei β -Anomeren. Die Abspaltung eines Trifluoracetylrestes (m/e 680) scheint dagegen bei den β -Anomeren (6.0 bzw. 3.5% relat. Int.) besonders bevorzugt zu sein, während es bei den α -Anomeren (0.6 bzw. 0.4%) kaum in Erscheinung tritt.

Neben den Ionen, die sich aus dem Molekül-Ion ableiten (Tab. 1), tritt eine Serie von Fragmenten auf, bei denen das Kohlenstoff-Gerüst der Zuckerreste teilweise abgebaut ist. Bei den Pentosiden, die in der Furanoseform vorliegen, tritt durch Verlust des $CF_3CO_2CH_2$ -Restes mit dem exocyclischen C-5'-Atom ein Ion der Massenzahl 524 auf. Die weitere Eliminierung eines CF_3CO_2H -Moleküls führt zu m/e 410 (Abbild. 4). Obwohl die relativen Intensitäten dieser Ionen nur in wenigen Fällen über 1% liegen, sind sie doch für die Unterscheidung der Furanoside von den Pyranosiden äußerst wichtig (Tab. 2).

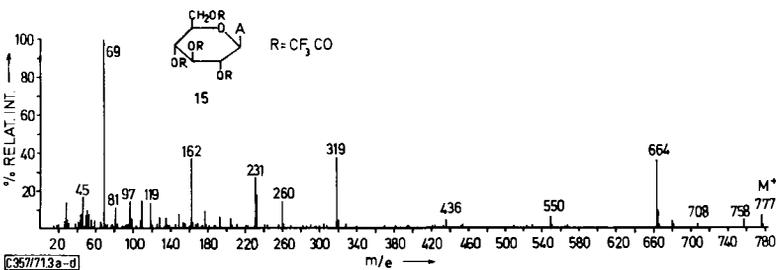
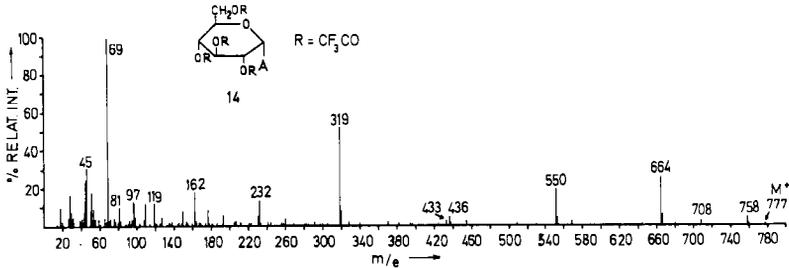
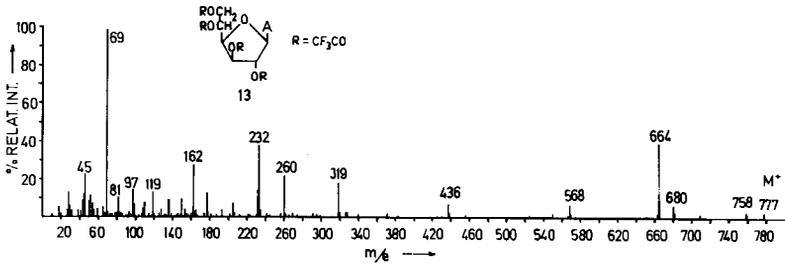
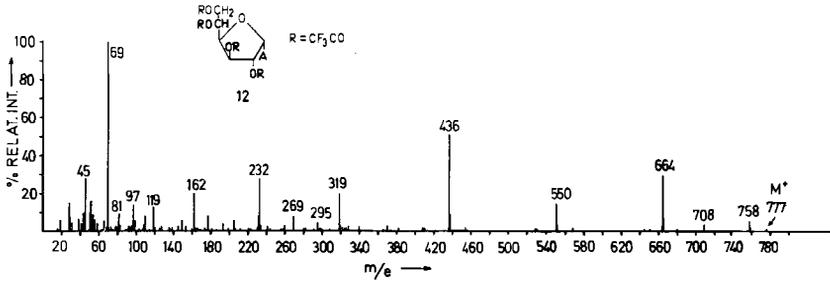


Abbild. 2. Vergleich der Massenspektren von trifluoracetyliertem 9- α -D-Lyxofuranosyl-adenin (5) und 9- β -D-Lyxofuranosyl-adenin (6)

Tab. 2. Charakteristische Ionen und relative Intensitäten bei Adenin-pentosiden, die in der furanoiden Form vorliegen

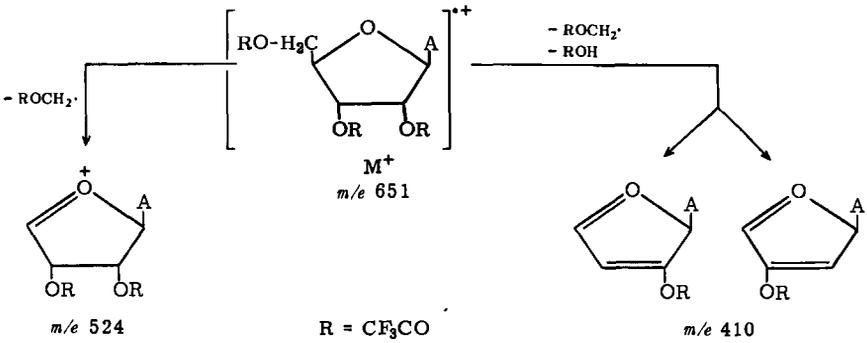
	relat. Int. %	
	m/e 524	m/e 410
1	0.5	0.6
2	0.4	0.5
5	0.3	1.8
6	0.2	0.4
9	0.4	0.7
10	0.3	1.1

Ein Ion bei Massenzahl 524 tritt auch bei Furanosiden der Hexose-Reihe auf, bei denen C-6' und C-5' außerhalb des Rings stehen. Es ist anzunehmen, daß hierbei eine Fragmentierung eintritt, bei der C-6' und C-5' mit ihren Trifluoracetylgruppen abgespalten werden.

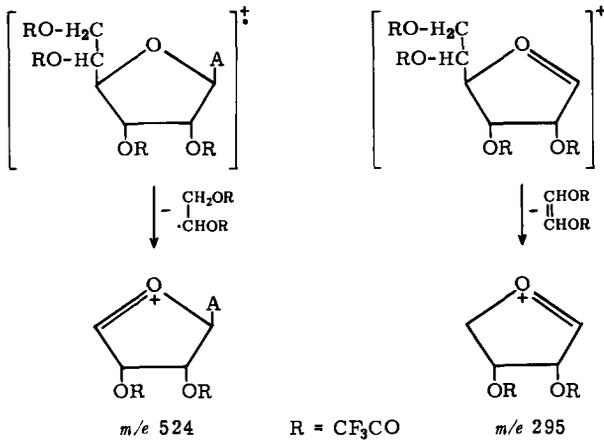


Abbild. 3. Vergleich der Massenspektren von trifluoracetyliertem 9- α -D-Glucufuranosyl-adenin (12), 9- β -D-Glucufuranosyl-adenin (13), 9- α -D-Glucopyranosyl-adenin (14) und 9- β -D-Glucopyranosyl-adenin (15)

In ähnlicher Weise kann der Zuckerrest mit der Masse 547 durch Verlust der C-6'- und C-5'-Atome unter Umlagerung eines H-Atoms in ein Ion m/e 295 fragmentieren (Abbild. 5).



Abbild. 4. Fragmentierungsschema von Adenin-pentosiden, die in der furanoiden Form vorliegen



Abbild. 5. Fragmentierungsschema von Adenin-Hexose-Derivaten, die in der furanoiden Form vorliegen

Dieses Ion ist charakteristisch für Furanoside der Hexose-Derivate mit exocyclischem C-6' und C-5'.

Tab. 3. Charakteristische Ionen und relative Intensitäten bei Adenin-Hexose-Derivaten, die in der furanoiden Form vorliegen

	relat. Int. %	
	m/e 524	m/e 295
12	0.6	4.5
13	0.4	1.1
16	0.2	3.0
20	1.5	4.0

Bei allen Pyranosiden der Hexose-Reihe tritt ein Ion bei m/e 433 auf, das durch Eliminierung eines $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ -Moleküls aus dem Zuckerrest (Masse 547) entsteht. Dieses Ion scheint charakteristisch für die Pyranoseform zu sein und wird bei Furanosen nicht beobachtet.

Im oberen Massenbereich lassen sich die Pyranoside außerdem durch das Auftreten eines charakteristischen Peaks bei m/e 508 von den Furanosiden unterscheiden. Man kann sich dieses Ion formal durch Abspaltung von $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ und $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CO}$ entstanden denken.

Tab. 4. Charakteristische Ionen und relative Intensitäten bei Adenin-Hexose-Derivaten, die in der pyranoiden Form vorliegen

	relat. Int. %	
	m/e 508	m/e 433
14	1.1	2.0
15	1.2	0.3
17	1.2	0.5
18	1.0	2.0
19	2.5	1.5
22	0.3	1.3

Charakteristisch in den Spektren der Substanzen mit unsubstituiertem C-1' ist das Auftreten eines Ions 30 Masseneinheiten höher als die Base (m/e 260).

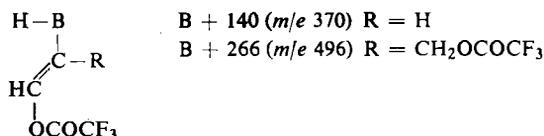
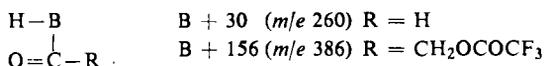
Hochauflösungs-Untersuchungen⁹⁾ haben gezeigt, daß dieses Ion die Base, das C-1'-Atom und das Sauerstoffatom des Ringes enthält. Es fällt auf (Abbild. 1–3), daß die Intensität des Ions m/e 260 bei β -Anomeren bedeutend höher ist als bei α -Anomeren. Die Nachbarstellung des Purinsystems zum Ring-Sauerstoff in den β -Anomeren scheint die Bildung dieses Ions besonders zu begünstigen.

Besonders wichtig ist dieses Ion auch für die Erkennung von C-1'-substituierten Hexosen. Hierbei tritt eine charakteristische Verschiebung von m/e 260 nach m/e 386 ein (Tab. 5). Die Massendifferenz entspricht der Differenz des Substituenten $\text{CH}_2\text{OCOCF}_3$ und eines H-Atoms in den unsubstituierten Derivaten.

Tab. 5. Charakteristische Ionen und relative Intensitäten bei Adenin-Hexose-Derivaten mit Substitution an C-1'

	relat. Int. %	
	m/e 496	m/e 386
21	1.0	0.9
22	0.5	1.8
23	0.2	2.8

Analog dazu ist eine Verschiebung um 126 Masseneinheiten auch bei einem Ion $B + 140$ zu beobachten, das neben dem Basenrest noch die C-1'- und C-2'-Atome enthält:



Die Beobachtung dieser Verschiebung wurde schon früher am 9- β -D-Psicofuranosyladenin gemacht und durch Hochauflösungs-Messungen bestätigt¹⁴⁾.

Beschreibung der Versuche

Material: Die Substanzen, mit Ausnahme der unten aufgeführten, wurden von Dr. H. B. Wood, National Institute of Health, Bethesda, Maryland (USA), in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Die Verbindungen **1, 2, 5, 6, 9, 12, 14, 15** und **21** wurden auf folgende Art synthetisiert.

Die α -anomeren *Adeninucleoside der Glucose* treten als Nebenprodukte (5% Pyranosid, 12% Furanosid) bei dem Schwermetall-Syntheseverfahren nach *Fischer-Helferich*²¹⁾ auf, obwohl bisher ausschließlich die β -Anomeren erhalten wurden, wie es nach der *Baker-Regel*²²⁾ zu erwarten ist. Die Isolierung der pyranoiden und der furanoiden Anomerenpaare des Adenin-9-glucosids gelingt nach Trennung an Dowex 1 X 2 (OH-Form) mit wäßrigem Methanol als Elutionsmittel (Methode nach *Dekker*²³⁾).

Die *Pyranosenucleoside* werden wie bei *Davoll-Lowy*²⁴⁾ synthetisiert. Die Darstellung der *Furanoside* erfolgt nach *Baker et al.*²⁵⁾ über das benzoyleierte Äthyl-1-thiofuranosid²⁶⁾ und das mit Br_2 daraus gewonnene 2.3.5.6-Tetra-O-benzoyl-glucofuranosylbromid.

Pyranoside: In einem 250-ccm-Zweihalskolben werden 1.8 g (4.4 mMol) *6-Acetaminopurinmercurichlorid* in 100 ccm absol. Xylol suspendiert und davon ca. 30 ccm abdestilliert, um Feuchtigkeitsreste zu entfernen. 2.35 g (5.7 mMol) *Acetobromglucose* in 50 ccm Xylol werden der heißen Suspension unter kräftigem Rühren zugetropft. Dann wird 2 Std. unter Rückfluß gekocht, das Lösungsmittel danach entfernt, der Rückstand mit Chloroform extrahiert, der Extrakt nacheinander mit 30proz. KJ-Lösung und Wasser ausgeschüttelt und die Chloroformphase über CaCl_2 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand in 50 ccm absol. Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ccm 1*n* Natriummethylatlösung versetzt und über Nacht stehengelassen. Die alkalische Lösung wird mit Dowex-H[®] neutralisiert, zur Trockne eingeeengt, der Rückstand in 10 ccm Wasser aufgenommen und diese Lösung auf eine Dowex-OH[®]-Säule (45 \times 2.8 cm) aufgetragen. Die Elution erfolgt

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

22) R. B. Baker, Ciba Foundation Symposium on Chem. and Biol. of Purines, S. 120, Churchill Ltd., London 1957.

23) A. Dekker, J. Amer. chem. Soc. **87**, 4027 (1965).

24) J. Davoll und B. A. Lowy, J. Amer. chem. Soc. **75**, 1650 (1951).

25) E. J. Reist, R. R. Spencer und B. R. Baker, J. org. Chemistry **23**, 1958 (1958).

26) M.-L. Wolfrom und W. Groebke, J. org. Chemistry **28**, 2986 (1963).

mit 600 ccm Wasser und 1.5 l 30proz. Methanol, das Eluat wird in 10-ccm-Fractionen gesammelt. Die Fractionen 85–115 enthalten 571 mg 9- β -D-Glucopyranosyl-adenin (15), die Fractionen 122–148 29 mg 9- α -D-Glucopyranosyl-adenin (14). Gesamtausbeute 43% (Lit.²¹): 22%.

β : Schmp. 236–237° (Lit.²¹): 236°, $[\alpha]_D^{25}$: -9.7° ($c = 1.0$; Wasser) (Lit.²¹): $[\alpha]_D^{25}$: -10.5° ; $c = 3.2$; Wasser).

α : Schmp. 188–190°; $[\alpha]_D^{25}$: $+103^\circ$ ($c = 1.0$; Wasser).

Furanoside: 6.4 g (10 mMol) Äthyl-tetra-O-benzoyl-1-thio- α -D-glucufuranosid werden in 70 ccm absol. Äther gelöst und auf 0° gekühlt. Unter Rühren werden in 10 Min. 1.75 g (0.55 ccm; 11 mMol) Brom in absol. Petroläther zugetropft. Es wird 1/2 Stde. bei Raumtemp. gerührt und dann im Rotationsverdampfer auf ein kleines Volumen eingengt. Nach Zusatz von 30 ccm wasserfreiem Petroläther entsteht ein orangegelber Sirup. Das Lösungsmittel wird nun dekantiert, der Sirup in 50 ccm absol. Toluol aufgenommen und diese Lösung mit einer Suspension aus 4.74 g (10 mMol) 6-Benzamino-purinmercurichlorid und 5 g Cadmiumcarbonat in 200 ccm absol. Toluol vereinigt. Man kocht 3 Stdn. unter Rückfluß, filtriert nach dem Erkalten den Niederschlag ab, dampft das Filtrat zur Trockne ein, nimmt den Rückstand in Chloroform auf, schüttelt zweimal mit einer 30proz. KJ-Lösung aus, wäscht die organische Phase zweimal mit Wasser und trocknet über CaCl₂. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird in 200 ccm absol. Methanol gelöst, die Lösung mit 20 ccm einer 1 n Natriummethylat-Lösung versetzt und 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Die alkalische Lösung wird mit Dowex-H⁺ neutralisiert, das Lösungsmittel abgezogen und die Lösung des Rückstands in 200 ccm Wasser dreimal mit je 100 ccm Äther extrahiert. Die Isolierung erfolgt mittels einer Dowex-OH⁻-Säule (45 × 2.5 cm), die mit 60proz. Methanol äquilibriert worden war. Zur Elution werden 1 l 60proz. Methanol und weitere 2.4 l 90proz. Methanol verwendet. Das Eluat wird in 20-ccm-Fractionen gesammelt. Die Fractionen 129–141 enthalten 74 mg 9- α -D-Glucufuranosyl-adenin (12), die Fractionen 142–169 550 mg 9- β -D-Glucufuranosyl-adenin (13). Die Gesamtausbeute beträgt 22% (Lit.²⁵): 21%.

β : Schmp. 265–267° (Lit.²⁵): 268–270°, $[\alpha]_D^{25}$: -56° ($c = 0.1$; Wasser) (Lit.²⁵): $[\alpha]_D^{25}$: -58.0° ; $c = 1$; 1 n HCl).

α : Schmp. 134–135°; $[\alpha]_D^{25}$: $+48^\circ$ ($c = 1$, Wasser).

Die Synthese von Arabino- und Lyxofuranosiden wird nach Schramm et al. durchgeführt^{27,28}).

Trifluoracetyl-Derivate: 100 μ g Substanz werden in 100 μ l CH₂Cl₂ + 10 μ l Trifluoressigsäure-anhydrid in einem mit Teflonscheibe versehenen Schraubdeckelgläschen 30 Min. auf 100° erhitzt. Von der Lösung werden 10 μ l ($\hat{=}$ 10 μ g freies Nucleosid) im Direkteinlaß-System des LKB-9000-Massenspektrometers untersucht. Bedingungen: 70 eV Ionisierungsspannung, 250° Ionenquellentemp., 3.5 kV Beschleunigungsspannung.

²⁷) G. Schramm, G. Lünzmann und F. Bechmann, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **145**, 221 (1967).

²⁸) G. Lünzmann und G. Schramm, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **169**, 263 (1968).