

Wolfgang Pfeiderer^{*)}, Muthana Shanshal^{**)} und Klaus Eistetter

Nucleoside, V¹⁾

Synthese und Struktur von 8-Methyl- und 8-Trifluormethyl-guanin-Nucleosiden

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Stuttgart und dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

(Eingegangen am 30. Dezember 1971)

Die Synthese verschiedener 8-Methyl- und 8-Trifluormethyl-guanin-Glykoside nach dem Quecksilbersalz-Verfahren wird beschrieben. Durch N-7- und N-9-Substitution entstehen jeweils Isomergemische, welche in die Komponenten zerlegt und mit Hilfe von UV-, NMR- und CD-Spektren strukturell aufgeklärt werden.

Nucleosides, V¹⁾

Synthesis and Structure of 8-Methyl- and 8-(Trifluoromethyl)guanine Derivatives

The synthesis of various 8-methyl- and 8-(trifluoromethyl)guanine derivatives *via* the mercury-salt method is described. N-7 and N-9 substitution leads in all cases to mixtures of isomers which have been separated into the components and elucidated in their structures by u.v., n.m.r. and c.d. spectra.

Glykosidierungen am Guanin selbst nach verschiedenen Schwermetallsalz-Methoden^{2,3)} sind bislang stets erfolglos geblieben, so daß Guanin-Nucleoside zunächst nur auf indirekten Wegen, ausgehend von 2,6-di-^{4,5)} und 2,6,8-trisubstituierten Purinen⁶⁾ zugänglich waren. Durch Acylierung freier Aminogruppen läßt sich der Reaktionsverlauf jedoch recht günstig beeinflussen, und es können dann sowohl über die Purin-Quecksilberchlorid-Salze mit Halogenosen^{7,8,9)} als auch die Acylaminopurine mit vollacylierten Zuckern in Gegenwart von Friedel-Crafts-Katalysatoren^{10,11)} oder nach der Schmelzkondensationsmethode¹²⁾ Nucleoside erhalten

^{*)} Neue Anschrift: Fachbereich Chemie, Univ., 775 Konstanz.

^{**)} Teil der Dissertation, Univ. Stuttgart 1967.

¹⁾ IV. Mittell.: H. U. Blank, D. Frahne, A. Myles und W. Pfeiderer, Liebigs Ann. Chem. **742**, 34 (1970).

²⁾ E. Fischer und B. Helferich, Ber. dtsch. chem. Ges. **47**, 210 (1914).

³⁾ J. Davoll und B. A. Lowy, J. Amer. chem. Ges. **73**, 1650 (1951).

⁴⁾ F. J. Reist und L. Goodman, Biochemistry **3**, 15 (1964).

⁵⁾ E. Walton, F. W. Holly, G. E. Boxer, R. F. Nutt und S. R. Jenkins, J. med. Chem. **8**, 659 (1965).

⁶⁾ J. Davoll, B. Lythgoe und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] **1948**, 1685.

⁷⁾ Z. A. Shabarova, Z. P. Polyakova und M. A. Prokof'ev, Zhur. Obshchei Khim. **29**, 215 (1959), C. A. **53**, 21998 (1959).

⁸⁾ S. R. Jenkins, F. W. Holly und E. Walton, J. org. Chemistry **30**, 2851 (1965).

⁹⁾ G. L. Tong, R. J. Ryan, W. W. Lee, E. M. Acton und L. Goodman, J. org. Chemistry **32**, 859 (1967).

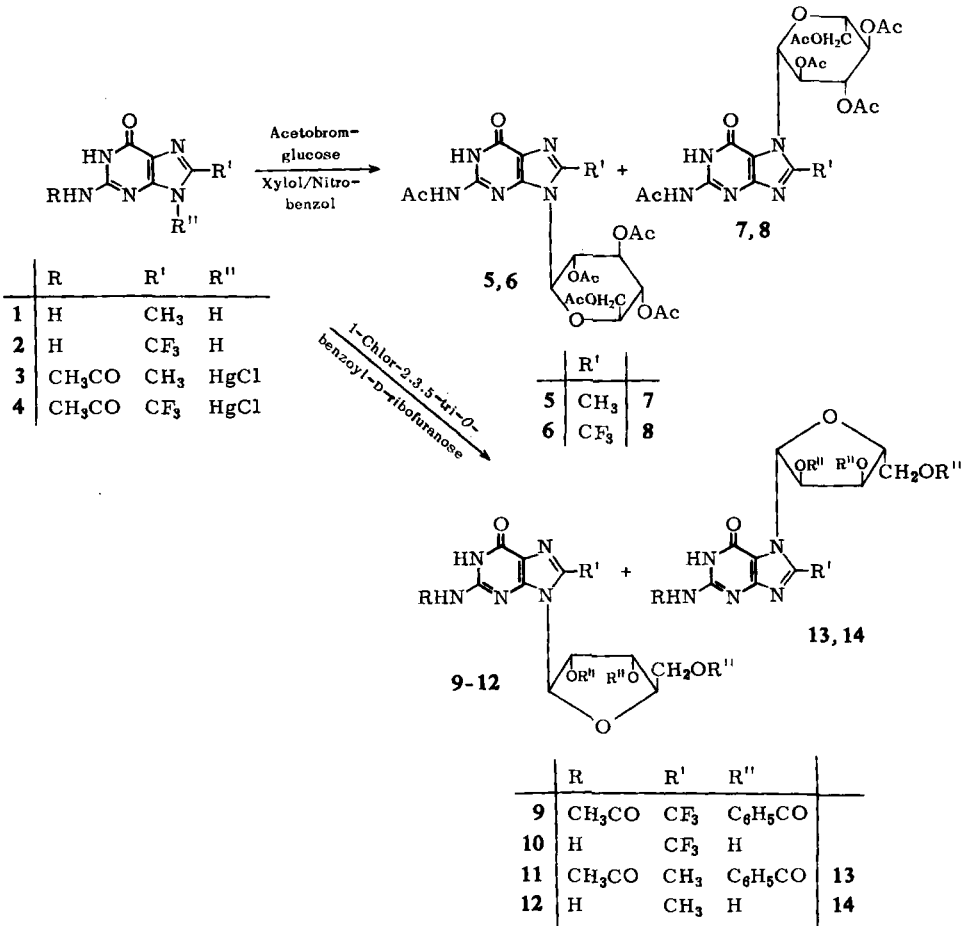
¹⁰⁾ Y. Furukawa und M. Honjo, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **16**, 1076 (1968).

¹¹⁾ W. W. Lee, A. P. Martinez und L. Goodman, J. org. Chemistry **36**, 842 (1971).

¹²⁾ K. Iwai, A. Nohara und M. Honjo, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **14**, 1377 (1966).

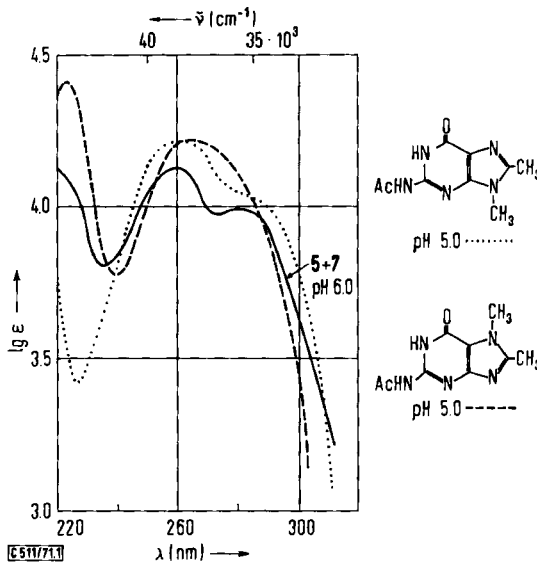
werden. Unter den verschiedensten Bedingungen resultieren meist Gemische der entsprechenden Purin-N-7- und -N-9-Glykoside, und weitere Auftrennungen führen mitunter noch zu den jeweiligen α - und β -Anomeren.

Nach diesen Befunden war es nicht verwunderlich, daß erste orientierende Versuche, 8-Methyl- (1) und 8-Trifluormethyl-guanin (2) über ihre Silber- bzw. Chlorquecksilber-Salze mit Halogenosen zur Reaktion zu bringen, ohne Erfolg blieben. Da dieselben Ausgangssubstanzen auch in einer Schmelzkondensationsreaktion mit α -Pentaacetylglucose kein positives Resultat zeigten, haben wir die Glykosidierungen in Analogie zur ersten erfolgreichen direkten Guaninglykosid-Synthese⁷⁾ über das 8-Methyl-N²-acetyl- (3) und das 8-Trifluormethyl-N²-acetyl-guanin-quecksilberchlorid (4) in Angriff genommen. Als Reaktionsmedium für die Umsetzungen mit α -Acetobromglucose erwies sich ein Gemisch aus gleichen Teilen Xylol und Nitrobenzol als sehr geeignet: nach mehrstündigem Kochen lieferten sowohl 3 (in 32proz.



Ausbeute) als auch **4** (in 41proz. Ausbeute) ein Isomerengemisch, das sich nur im letzteren Falle durch fraktionierte Kristallisation in das N-9- (**6**) und N-7-Guanin-glucosid (**8**) auftrennen ließ. Eine Separierung in die Komponenten **5** und **7** war selbst auf chromatographischem Wege nicht möglich, da beide Isomeren in allen von uns versuchten Chromatographiesystemen nahezu gleiche R_F -Werte zeigten.

Die Verknüpfungsstellen zwischen Aglykon und Kohlenhydratrest wurden auf der Basis von Spektrenvergleichen mit den strukturell gesicherten Modellsubstanzen¹³⁾ 7,8-Dimethyl- und 8,9-Dimethyl-N²-acetyl-guanin (Abbild. 1) bzw. den entsprechenden 7-Methyl- und 9-Methyl-8-trifluormethyl-Derivaten (Abbild. 2) geklärt. Hier wird vor allem durch den Kurvenverlauf im kurzwelligen Bereich sichtbar, daß im ersteren Falle tatsächlich das Gemisch **5** + **7** vorliegt.

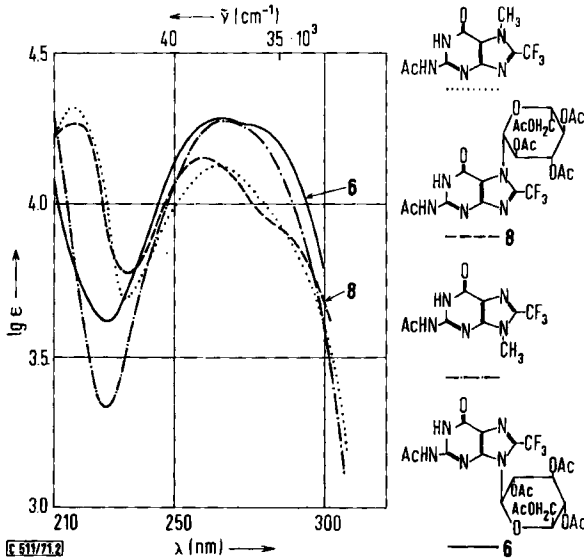


Abbild. 1. UV-Absorptionsspektren der Neutramoleküle von 8-Methyl-N²-acetyl-9- und -7-[2.3.4.6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-guanin (**5** + **7**) (— pH 6.0), 7,8-Dimethyl-N²-acetyl-guanin (--- pH 5.0) und 8,9-Dimethyl-N²-acetyl-guanin (..... pH 5.0)

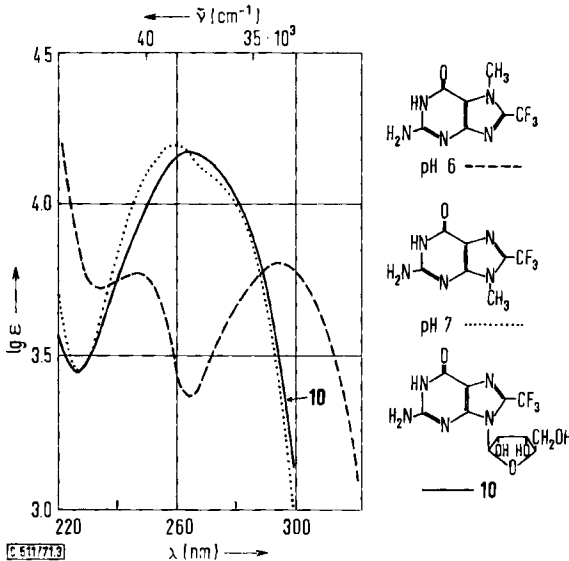
Bei analogen Glykosidierungsreaktionen mit 1-Chlor-2,3,5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose ließen sich das N-9-Ribosid **9** in 38proz. Ausbeute und, ausgehend von **3**, nach schwieriger schichtchromatographischer Trennung sowohl das 8-Methyl-N²-acetyl-2'.3'.5'-tri-O-benzoyl-guanosin (**11**) als auch das entsprechende N-7-Isomere **13** in geringen Ausbeuten isolieren.

Durch Behandlung mit methanolischem Ammoniak werden in bekannter Weise sämtliche Acylreste abgespalten, und man erhält die freien Nucleoside **10**, **12** und **14**. Zum Strukturbeweis der synthetisierten Riboside eignen sich am besten wieder die UV-Spektren, wobei man zur Vermeidung störender Einflüsse durch die Benzoylgruppen vorteilhafterweise die ungeschützten Nucleoside mit den entsprechenden N-Methyl-guanin-Derivaten vergleicht (Abbild. 3 und 4).

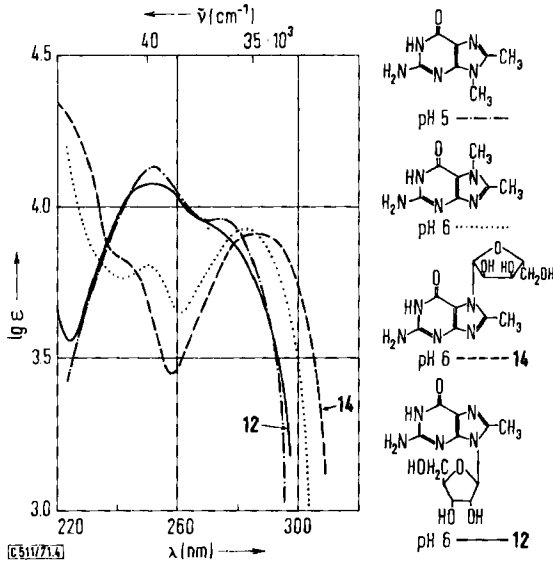
¹³⁾ W. Pfeleiderer und M. Shanshal, Liebigs Ann. Chem. **726**, 201 (1969).



Abbild. 2. UV-Absorptionsspektren von 8-Trifluormethyl-*N*²-acetyl-9- (6) ——— und 8-Trifluormethyl-*N*²-acetyl-7-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl]-guanin (8) - - - sowie von 7-Methyl-8-trifluormethyl-*N*²-acetyl-guanin · · · · · und 9-Methyl-8-trifluormethyl-*N*²-acetyl-guanin - · - · - in Methanol



Abbild. 3. UV-Absorptionsspektren des 8-Trifluormethyl-guanosins (10) ———, des 7-Methyl-8-trifluormethyl-guanins - - - bei pH 6.0 und des 9-Methyl-8-trifluormethyl-guanins · · · · · bei pH 7.0



Abbild. 4. UV-Absorptionsspektren des 8-Methyl-guanosins (12) ———, 8-Methyl-7-[β -D-ribofuranosyl]-guanins (14) - - -, 7,8-Dimethyl-guanins ····· bei pH 6.0 und 8,9-Dimethyl-guanins - · - · bei pH 5.0

Eine Konfigurationsermittlung der jeweiligen glykosidischen Bindung der dargestellten Nucleoside darf davon ausgehen, daß die durchgeführten Synthesen unter sterischer Kontrolle¹⁴⁾ ablaufen und der sogenannten *Tipson-Bakerschen* „*trans*-Regel“^{15, 16)} gehorchen. Die β -glykosidische Konfiguration der Glucoside läßt sich an Hand der NMR-Spektren beweisen, da die Kopplungskonstanten der jeweiligen C-1'-Protonen mit $J_{1',2'} \sim 9$ Hz in einem Bereich liegen, welcher eine klare Zuordnung nach der *Karplus-Beziehung*¹⁷⁾ erlaubt. Auffallend ist bei den NMR-Spektren von 6 und 8 auch die Tatsache, daß das Signal für das 1'-H bei höherem Feld erscheint als das für das 2'-H (Abbild. 5).

In beiden Verbindungen ist ferner die Lage der Zuckerprotonen mit Ausnahme von 1'-H kaum verändert, was für eine sehr ähnliche chemische Umgebung und, damit verbunden, eine relativ fixierte Konformation spricht. Versucht man diesen Befunden in einem Formelbild Rechnung zu tragen unter gleichzeitiger Berücksichtigung der relativen Verschiebung von 1'-H in 8 zu etwas tieferem Feld, so bieten sich die *anti*-Konformationen 15 und 16 an, da hier das 2'-H in die Nähe der 8-Trifluormethylgruppe und das 1'-H in 8 zusätzlich in den Einflußbereich der 6-Carbonylgruppe gelangen.

¹⁴⁾ H. G. Fletcher, Trans. New York Acad. Sci. Ser. II, **30**, 649 (1968).

¹⁵⁾ R. S. Tipson, J. biol. Chemistry **130**, 55 (1939).

¹⁶⁾ B. R. Baker, Ciba Foundation Symposium, Chemistry and Biology of Purines, S. 120, J. and A. Churchill Ltd., London 1957.

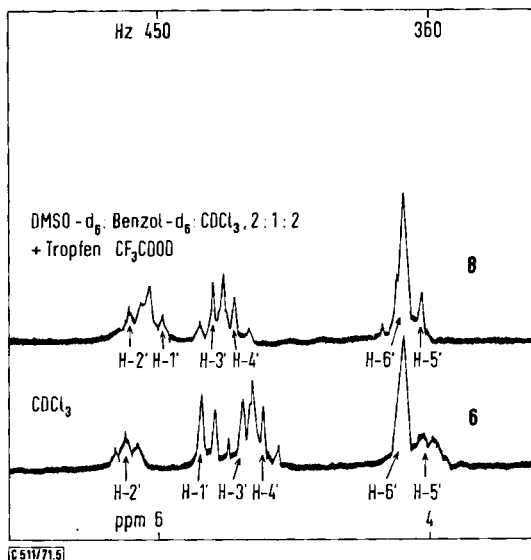
¹⁷⁾ L. D. Hall, Advances Carbohydrate Chem. **19**, 51 (1964).

Tab. 1. Physikalische Daten von Guanin-Derivaten

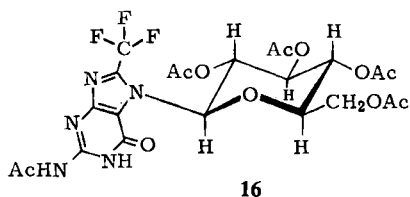
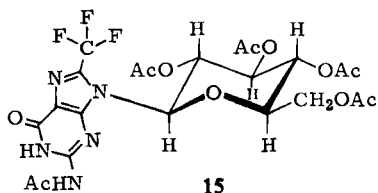
	pK_a -Wert in Wasser bei 20° Streuung	λ_{\max} (nm)	UV-Absorptionsspektren $\lg \epsilon$	pH-Wert	Molekül- art
8-Trifluormethyl- <i>N</i> 2-acetyl-guanin- quecksilberchlorid (4)	10.01 ± 0.08		271 275 265	7.0 13.0 MeOH	0 — 0
8-Methyl- <i>N</i> 2-acetyl-7- + 9-[2.3.4.6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl]-guanin (7 + 5)	8.25 ± 0.05	263 283 223 270 222 262 [281]	4.13 3.99 4.37 4.03 4.34 4.12 [4.00]	6.0 12.0 MeOH	0 — 0
7,8-Dimethyl- <i>N</i> 2-acetyl-guanin (3)	3.11 ± 0.05 8.62 ± 0.02	260 222 265 224 268	4.26 4.41 4.22 4.42 4.09	1.0 5.0 12.0	+ 0 —
8,9-Dimethyl- <i>N</i> 2-acetyl-guanin (3)	3.17 ± 0.01 8.93 ± 0.02	262 262 [280] 262	4.23 4.22 [4.05] 4.11	1.0 5.0 12.0	+ 0 —
8-Trifluormethyl- <i>N</i> 2-acetyl- 9-[2.3.4.6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl]-guanin (6)		267 263 [280]	4.25 4.28 [4.25]	5.0 MeOH	0 0
8-Trifluormethyl- <i>N</i> 2-acetyl- 7-[2.3.4.6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl]-guanin (8)		221 268 217 258 [289]	4.28 4.15 4.27 4.15 [3.89]	5.0 MeOH	0 0
7-Methyl-8-trifluormethyl- <i>N</i> 2-acetyl-guanin (3)		217 266	4.32 4.13	MeOH	0
9-Methyl-8-trifluormethyl- <i>N</i> 2-acetyl-guanin (3)		266	4.27	MeOH	0
8-Trifluormethyl- <i>N</i> 2-acetyl- 2',3',5'-tri- <i>O</i> -benzoyl-guanosin (9)		228 268 [280]	4.63 4.26 [4.22]	MeOH	0

8-Trifluormethyl-guanosin (10)	9.08 ± 0.08	263	277	4.18	4.09	6.0	0
		264		4.20		12.0	0
		256		4.01		MeOH	0
9-Methyl-8-trifluormethyl-guanin (13)	0.86 ± 0.01	258	[270]	4.20	[4.11]	7.0	+
	9.16 ± 0.03	[260]	277	[3.78]	3.98	12.0	0
		[245]	270	[3.72]	3.93	0.0	+
7-Methyl-8-trifluormethyl-guanin (13)	2.08 ± 0.05	245	292	3.72	3.76	6.0	0
	8.80 ± 0.05	[240]	292	[3.72]	3.76	12.0	0
		230	253	4.62	[4.25]	4.12	0
8-Methyl-N ² -acetyl-2',3',5'-tri-O-benzoyl-guanosin (11)		[260]	280	4.26		MeOH	0
8-Methyl-guanosin (12)	3.01 ± 0.07	260	[273]	4.11	[4.00]	0.0	+
	9.55 ± 0.02	252	[270]	4.08	[3.95]	6.0	0
		256		4.10		11.0	0
		252	[273]	4.15	[3.96]	MeOH	0
		226	265	4.75	4.20	4.11	0
8-Methyl-N ² -acetyl-7-[2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl]-guanin (13)		252	277	3.94	3.84	0.0	+
	3.19 ± 0.02	[243]	287	[3.82]	3.91	6.0	0
	10.70 ± 0.05	[239]	282	[3.89]	3.85	12.0	0
		218	[243]	4.35	[3.78]	3.91	0
		249	277	4.10	3.92	0.0	+
		250	283	3.81	3.93	6.0	0
		[235]	280	[3.83]	3.93	12.0	0
7,8-Dimethyl-guanin (13)	4.40 ± 0.06	252	277	4.14	3.93	[3.85]	+
	9.90 ± 0.07	252	273	4.13	3.96	5.0	0
		[252]	268	[4.03]	4.06	12.0	0

+ = Kation; 0 = Neutralmolekül; — = Monoanion
[] Schalter



Abbild. 5. 90-MHz-NMR-Spektren des 8-Trifluormethyl-*N*²-acetyl-guanin-9- β - (6) und -7- β -D-[2.3.4.6-tetra-*O*-acetyl-glucopyranosids] (8)



Bei den Guanin-ribofuranosiden liegen die Verhältnisse bekanntlich¹⁷⁾ weit komplizierter, und eine eindeutige Strukturzuordnung der glykosidischen Bindung auf der Basis einer umfassenden NMR-Analyse ist bislang nicht möglich gewesen. Erst die jeweiligen Anomeren könnten durch Vergleich¹⁸⁾ der Kopplungskonstanten und chemischen Verschiebungen der ausgezeichneten Signale die erforderlichen Kriterien für eindeutige Schlüsse liefern.

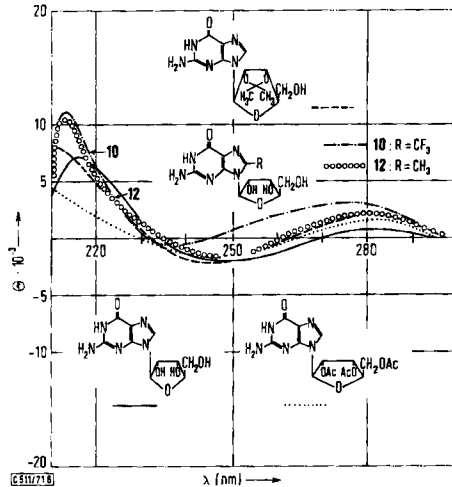
Weitere wertvolle strukturelle Informationen lassen sich auch aus dem Vergleich der CD-Spektren gewinnen, wenn man die neu dargestellten Guanin-ribofuranoside mit bekannten Guanosin-Derivaten in Beziehung setzt. Dafür erwies sich die Aufnahme von CD-Spektren in Methanol als besonders geeignet.

Aus den sehr ähnlichen Kurvenverläufen von Guanosin, 2'.3'.5'-Tri-*O*-acetyl- und 2'.3'-Isopropyliden-guanosin einerseits und 8-Methyl- (12) bzw. 8-Trifluormethyl-guanosin (10) andererseits (Abbild. 6) läßt sich ablesen, daß hier nicht nur die Konfiguration sondern auch die *anti*-Konformation¹⁹⁾ übereinstimmen. In gleicher Weise können die CD-Spektren von 2'.3'.5'-Tri-*O*-benzoyl-guanosin, 9 und 11 interpretiert werden, wobei es hier durch die Gegenwart der Benzoylgruppen zu einer auffallend

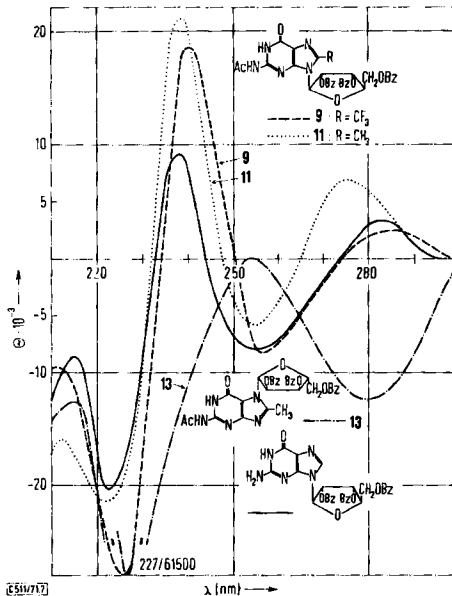
¹⁸⁾ H. Rokos und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **104**, 748 (1971).

¹⁹⁾ D. W. Miles, L. B. Townsend, M. J. Robins, R. K. Robins, W. H. Inskip und H. Eyring, J. Amer. chem. Soc. **93**, 1600 (1971).

starken charakteristischen Strukturierung des Spektrums kommt (Abbild. 7). Auf die unwesentliche Beeinflussung des Kurvenverlaufs durch die Acetylgruppe an N² sei ebenfalls hingewiesen. Ferner erscheint uns für zukünftige Strukturermittlungen von Guanosin-Derivaten interessant, daß die Übergänge der CD-Banden im 8-Methyl-N²-acetyl-7-[2.3.5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl]-guanin (**13**) gerade entgegen-

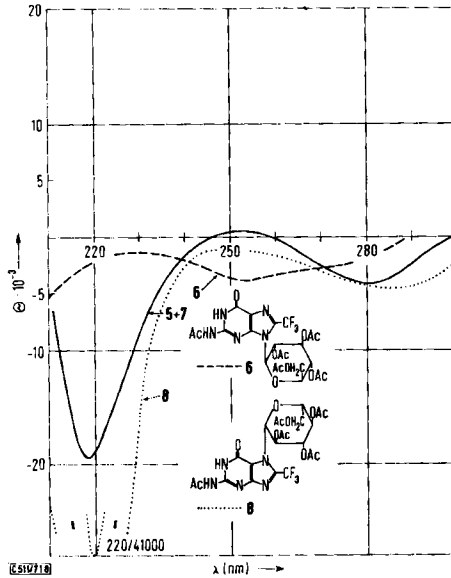


Abbild. 6. CD-Spektren von Guanosin —, 2',3',5'-Tri-O-acetyl-2',3'-isopropyliden-guanosin **10** - - - und **12** ○○○○ in Methanol



Abbild. 7. CD-Spektren von 2',3',5'-Tri-O-benzoyl-guanosin —, **9** - - -, **11** ○○○○ und **13** -△-△- in Methanol

gesetzt orientiert sind wie bei **11** (Abbild. 7). Der Wert der CD-Spektren bei Strukturzuordnungen wird auch aus dem Vergleich von **6** und **8** mit dem Isomerenmisch 5 und 7 sichtbar, da den schwachen Cotton-Effekten der N-9-Glucoside starke Übergänge in den N-7-Isomeren gegenüberstehen.



Abbild. 8. CD-Spektren von **5 + 7** ———, **6** - - - - und **8** ····· in Methanol

Tab. 2. CD-Spektren von Guanin-Glykosiden in Methanol

	λ_{\max} (nm)				CD-Spektren			
					[θ] $_{\max}$			
Guanosin	216	248	282		+7200	-2200	+800	
2'.3'.5'-Tri- <i>O</i> -acetyl-guanosin	245	283				-1600	+1800	
2'.3'-Isopropyliden-guanosin	245	280				-2200	+1900	
8-Methyl-guanosin (12)	215	248	280		+10500	-1600	+2100	
8-Trifluormethyl-guanosin (10)	215	236	277		+11000	-550	+3100	
8-Methyl-7-[β -D-ribofuranosyl]-guanin (14)	219	248	275	290	-21000	+950	-100	+1250
2'.3'.5'-Tri- <i>O</i> -benzoyl-guanosin	223	238	255	283	-20400	+9200	-8200	+3400
8-Methyl- <i>N</i> ² -acetyl-2'.3'.5'-tri- <i>O</i> -benzoyl-guanosin (11)	222	238	255	275	-21200	+21200	-5900	+6900
8-Trifluormethyl- <i>N</i> ² -acetyl-2'.3'.5'-tri- <i>O</i> -benzoyl-guanosin (9)	225	240	256	285	-28000	+18500	-8350	+2500
8-Methyl- <i>N</i> ² -acetyl-7-[2.3.5-tri- <i>O</i> -benzoyl- β -D-ribofuranosyl]-guanin (13)	227		254	280	-61500		+200	-12500
8-Trifluormethyl- <i>N</i> ² -acetyl-7-[2.3.4.6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl]-guanin (8)	220		247	285	-41000		-1600	-4400
8-Trifluormethyl- <i>N</i> ² -acetyl-9-[2.3.4.6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl]-guanin (6)	230	253				-1250	-3500	

Diese Arbeit wurde von der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* großzügig unterstützt, wofür wir danken, genauso wie der chem.-techn. Assistentin, Frau *M. Bischler*, für wertvolle Mithilfe bei der Bestimmung von physikalischen Daten. Herrn Doz. Dr. *J. C. Jochims* gilt unser besonderer Dank für Aufnahme und Diskussion der NMR-Spektren.

Beschreibung der Versuche

Zur Aufnahme der UV-Spektren stand ein Cary-Recording-Spektrophotometer, Modell 15, für die CD-Spektren ein Cary-Recording-Spektropolarimeter, Modell 60, CD-Zusatz 6002, der Firma Applied Physics und für die NMR-Spektren ein 90 MHz-Gerät der Firma Bruker zur Verfügung. Die Reinheit der Verbindungen wurde durch Dünnschicht- und Papierchromatogramme geprüft. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

8-Methyl-N²-acetyl-guanin-quecksilberchlorid (3): Zur Suspension von 5.4 g *8-Methyl-N²-acetyl-guanin*¹³⁾ in 1.5 l 90proz. Methanol werden unter Rühren 25 ccm 1 n NaOH gegeben. Nachdem eine klare Lösung entstanden ist, tropft man eine Lösung von 6.79 g *Quecksilber(II)-chlorid* in 10 ccm Methanol zu, rührt noch 1 Stde. bei Raumtemp. und saugt den Niederschlag ab. Nach Waschen mit Methanol und Trocknen bei 100° erhält man 9.64 g (87%) farbloses Produkt vom Schmp. >350°.

$C_8H_8ClHgN_5O_2$ (441.6) Ber. C 21.75 H 1.82 N 15.86 Gef. C 21.74 H 2.22 N 15.75

8-Trifluormethyl-N²-acetyl-guanin-quecksilberchlorid (4): 6.5 g *8-Trifluormethyl-N²-acetyl-guanin*¹³⁾ werden in einem Gemisch aus 800 ccm Methanol und 80 ccm Wasser suspendiert, durch Zugabe von 25 ccm 1 n NaOH gelöst und dann unter Rühren bei Raumtemp. mit 6.79 g *Quecksilber(II)-chlorid* in 10 ccm Methanol versetzt. Man rührt 5 Stdn. bei Raumtemp., engt zur Trockne ein und behandelt den Rückstand mit 500 ccm siedendem Äthanol. Vom Ungelösten wird abfiltriert, sodann stufenweise auf 250, 50 bzw. 20 ccm eingengt. Da sich die einzelnen Fraktionen nicht unterschieden, wurden sie vereinigt (12 g) und lieferten nach erneutem Umkristallisieren aus 300 ccm Äthanol 11.3 g (90%) farbloses Kristallpulver vom Schmp. >350°.

$C_8H_5ClF_3HgN_5O_2$ (496.2) Ber. C 19.36 H 1.01 N 14.11 Gef. C 19.49 H 1.50 N 13.90

8-Methyl-N²-acetyl-7- + -9-[2.3.4.6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl]-guanin (7 + 5): 2.0 g fein pulverisiertes **3** werden in einem Gemisch aus 400 ccm Xylol und 150 ccm Nitrobenzol unter Rühren 30 Min. gelinde rückfließend erhitzt. Zur Trocknung der Suspension werden dann 200 ccm Xylol abdestilliert. Man läßt auf 50° abkühlen, gibt eine Lösung von 2.1 g *α-Acetobromglucose* in 10 ccm absol. Xylol zu und erhitzt dann unter starkem Rühren 1½ Stdn. heftig unter Rückfluß. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wird vom Ungelösten abgesaugt und der Rückstand mit 50 ccm Chloroform ausgekocht. Man filtriert erneut, vereinigt beide Filtrate und engt dann am Rotationsverdampfer zunächst bei Wasserstrahlvak., später bei Ölpumpenvak., zum Sirup ein. Die braune Masse wird in 150 ccm Chloroform aufgenommen, vom Unlöslichen abfiltriert und dann die Chloroformschicht mit 20 ccm 33proz. KJ-Lösung ausgeschüttelt. Nach Trennung im Scheidetrichter wird nochmals mit Wasser gewaschen und die organische Phase mit Natriumsulfat über Nacht getrocknet. Nach Filtrieren wird das Chloroform abgezogen und der Rückstand zunächst aus 200 ccm Xylol bzw. der hieraus resultierende Niederschlag aus 10 ccm Äthanol umkristallisiert. Man erhält so 0.8 g (32%) farblose Kristalle vom Schmp. 310°.

$C_{22}H_{25}N_5O_{11} \cdot H_2O$ (553.4) Ber. C 47.73 H 4.91 N 12.65 Gef. C 47.88 H 5.28 N 12.47

8-Trifluormethyl-N²-acetyl-7- und -9-[2.3.4.6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl]-guanin (8 und 6): 1.0 g **4** wird in einem Gemisch aus 400 ccm Xylol und 200 ccm Nitrobenzol 30 Min. bei 70° gerührt. Man destilliert 200 ccm Lösungsmittel ab, setzt 0.83 g *α-Acetobromglucose* in 5 ccm absol. Xylol zu und kocht unter starkem Rühren 4 Stdn. (Rückfluß). Nach Abkühlen saugt man von den ungelösten Quecksilbersalzen ab, kocht mit 50 ccm Chloroform aus, filtriert erneut und engt die vereinigten Filtrate i. Vak. bzw. Hochvak. zur Trockne ein. Der sirupöse Rückstand wird in 70 ccm Chloroform aufgenommen, vom Ungelösten abfiltriert

und dann das Filtrat zunächst mit 20 ccm konz. KJ-Lösung sowie anschließend mit Wasser ausgeschüttelt. Man trocknet über Natriumsulfat, filtriert und engt erneut zum Sirup ein. Nach Lösen in wenig Chloroform wird auf eine Kieselgelsäule (2.2 × 40 cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (19:1) entwickelt. Man fängt sieben Fraktionen von 50 ccm auf, die Produkte in Fraktion 5 (0.32 g) und 6 (0.5 g) enthaltend. Die 0.32 g und 0.5 g werden jeweils in 5 ccm warmem Chloroform gelöst und langsam mit 50 bzw. 100 ccm Äther versetzt. Die in beiden Fällen einsetzende Kristallabscheidung wird durch Kühlen im Eisschrank vervollständigt. Man saugt die Niederschläge gemeinsam ab (0.136 g), engt das Filtrat auf 3 ccm ein, setzt 100 ccm Äther zu und gewinnt so eine weitere Fraktion (0.093 g), die ein Gemisch darstellt und deshalb nicht weiter aufgetrennt wurde. Die 0.136 g werden in 5 ccm heißem Chloroform gelöst, nach Zugabe von 10 ccm Äther in der Kälte kristallisieren 0.13 g (12%) **8** in feinen verfilzten Nadeln vom Zers.-P. >245° aus.

$C_{22}H_{24}F_3N_5O_{11}$ (591.5) Ber. C 44.67 H 4.09 N 11.84

8: Gef. C 44.68 H 4.17 N 11.89

6: Gef. C 44.93 H 4.26 N 11.96

Das Ätherfiltrat der zweiten Fraktion wird zur Trockne eingeengt und der Rückstand mit 100 ccm absol. Äther behandelt. Das ungelöste Produkt (0.22 g) wird abgesaugt und zur weiteren Reinigung aus 1 ccm Chloroform, dem man langsam 25 ccm Äther zugibt, umkristallisiert. Nach längerem Stehenlassen im Eisschrank scheiden sich 0.11 g (10%) **6** in farblosen Prismen vom Schmp. 192–194° ab.

8-Trifluormethyl-N²-acetyl-2'.3'.5'-tri-O-benzoyl-guanosin (9): 5.0 g fein pulverisiertes **4** werden im Gemisch 1 l Nitrobenzol/1.5 l Xylol suspendiert und bei schwachem Sieden 30 Min. gerührt. Man destilliert 500 ccm Xylol ab, läßt auf 50° abkühlen und setzt die aus 5.0 g *1-O-Acetyl-2.3.5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose* hergestellte *1-Chlor-2.3.5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose*²⁰⁾ in absol. Xylol zu. Anschließend wird bei intensivem Rühren 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Man läßt etwas abkühlen und saugt noch warm vom Ungelösten ab. Das Reaktionsfiltrat wird i. Wasserstrahl- und dann i. Ölvak. bis zur Trockne eingeengt. Die zurückbleibende braune Masse wird in 100 ccm Chloroform durch schwaches Erwärmen aufgenommen, von unlöslichen Quecksilbersalzen abfiltriert und dann mit dem Chloroformfiltrat, das man nach Auskochen des ersten Reaktionsrückstandes erhält, vereinigt. Man schüttelt jetzt mit 50 ccm 33proz. KJ-Lösung aus, trennt die beiden Schichten, wäscht mit Wasser nach und trocknet nach erneutem Trennen mit Natriumsulfat. Das Chloroform wird bei vermindertem Druck abgezogen und der zurückbleibende Sirup durch Kochen in 100 ccm Äther in eine feste Form übergeführt. Der Niederschlag wird im Vakuumexsiccator getrocknet (2.92 g). Durch Umkristallisation aus 25 ccm Äthanol mit Aktivkohle erhält man 2.7 g (38%) farblose Kristalle vom Schmp. 157–160°.

$C_{34}H_{26}F_3N_5O_9$ (705.6) Ber. C 57.87 H 3.71 N 9.92 Gef. C 58.26 H 4.17 N 10.35

8-Trifluormethyl-guanosin (10): 1.0 g **9** wird in 200 ccm bei –5° gesättigtem *methanol. Ammoniak* durch Schütteln gelöst. Man läßt 3 Tage bei 0° im Eisschrank stehen, engt dann zur Trockne ein, behandelt mit 50 ccm Äther durch Kochen unter Rückfluß und dekantiert die organische Phase. Der Rückstand wird in 50 ccm Wasser gelöst, 3 mal mit je 10 ccm Chloroform ausgeschüttelt und dann die wäbr. Schicht in der Hitze mit wenig Aktivkohle behandelt. Nach Filtrieren engt man auf ca. 20 ccm ein, läßt mehrere Stdn. bei Raumtemp. bzw. 0° stehen und sammelt dann den Niederschlag (0.12 g). Weiteres Einengen auf 3 ccm ergibt eine zweite Fraktion (0.16 g). Umkristallisation aus 5 ccm Wasser liefert 0.26 g (52%) farblose Kristalle vom Zers.-P. 180°.

$C_{11}H_{12}F_3N_5O_5$ (351.3) Ber. C 37.61 H 3.44 N 19.93 Gef. C 37.66 H 3.97 N 19.49

²⁰⁾ R. Carrington, G. Shaw und D. V. Wilson, J. chem. Soc. [London] 1965, 6864.

8-Methyl-N²-acetyl-7- + -9-[2.3.5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl]-guanin (13 + 11): 2.75 g fein gepulvertes **3** werden in 500 ccm Nitrobenzol und 1300 ccm Xylol suspendiert und unter Rühren 30 Min. gelinde rückfließend gekocht. Man destilliert 300 ccm Xylol ab, läßt auf 50° abkühlen und setzt die aus 2.75 g *1-O-Acetyl-2.3.5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose* mit HCl dargestellte 1-Chlor-halogenose²⁰) in 5 ccm absol. Xylol zu. Nach 2 Stdn. Kochen unter Rückfluß bei starkem Rühren läßt man auf ca. 100° abkühlen, saugt vom Ungelösten ab und kocht den Rückstand mit 20 ccm Chloroform aus. Die vereinigten Filtrate werden i. Wasserstrahl- bzw. Ölvak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mit 70 ccm warmem Chloroform behandelt, filtriert und dann die Chloroformlösung mit 20 ccm einer 33proz. KJ-Lösung ausgeschüttelt. Man trennt die beiden Schichten, wäscht das Chloroform mit Wasser nach und trocknet nach erneutem Trennen mit Natriumsulfat. Am andern Morgen wird abgesaugt und das Filtrat zum Sirup eingengt. Durch 10 Min. Kochen in 50 ccm Äther wird Umwandlung in eine feste Masse erreicht, welche nach mehrstdg. Kühlen abgesaugt wird. Trocknen im Vakuumexsiccator liefert 1.9 g Isomergemisch **11 + 13**.

Zur Trennung wird das Gemisch in möglichst wenig Chloroform auf 3 präparative Kieselgelplatten (20 × 20 × 0.2 cm, Kieselgel HF₂₅₄ nach Stahl) aufgetragen und mit Tetrahydrofuran/Chloroform (8 : 2) entwickelt. Man erhält drei Zonen, von denen die am schnellsten wandernde lediglich Verunreinigungen enthält und deshalb verworfen wurde.

Die zweite Fraktion wird mit einem Gemisch aus 100 ccm Aceton und 50 ccm Methanol durch schwaches Erwärmen eluiert. Nach Abfiltrieren wird eingengt, der Rückstand erneut in Chloroform gelöst, kurz mit Wasser gewaschen und nach Trennung der Schichten und Trocknen wieder zum Sirup eingengt. Durch Kochen in Äther ist ein farbloser kristalliner Niederschlag erhältlich (0.22 g). Umkristallisation aus 15 ccm Äthanol liefert 0.2 g (5%) **13** in farblosen Kristallen vom Schmp. 250°.

$C_{34}H_{29}N_5O_9$ (651.3) Ber. C 62.71 H 4.48 N 10.75

13: Gef. C 61.96 H 4.48 N 10.28

11: Gef. C 62.44 H 4.23 N 10.43

Mit der dritten Fraktion wird analog verfahren. Umkristallisation des Rohprodukts (0.13 g) aus 2 ccm Äthanol mit Aktivkohle ergibt 0.11 g (2.7%) **11** als farblose Kristalle vom Schmp. 238–240°.

8-Methyl-guanosin (12): 0.7 g Isomergemisch **11 + 13** werden in 200 ccm bei 0° gesättigtem *methanol*. Ammoniak 3 Tage im Eisschrank stehengelassen. Man engt zur Trockne ein, nimmt den Rückstand in Wasser auf und schüttelt zur Entfernung der Benzoesäurederivate mehrmals mit je 10 ccm Chloroform aus. Die wäßr. Schicht wird auf ca. 10 ccm eingengt und längere Zeit stehengelassen. Der abgeschiedene Niederschlag wird abgesaugt (0.165 g) und aus dem Filtrat durch weiteres partielles Einengen eine zweite Fraktion gewonnen (0.086 g). Man kocht mit 20 ccm Äthanol auf, wobei 17 mg **14** ungelöst bleiben. Das Filtrat wird erneut eingengt und der Rückstand aus 10 ccm Wasser umkristallisiert. Es werden so 0.14 g (41%) farblose Kristalle vom Schmp. 225–230° erhalten.

$C_{11}H_{15}N_5O_5 \cdot H_2O$ (315.3) Ber. C 41.90 H 5.43 N 22.21 Gef. C 41.68 H 5.06 N 22.02

8-Methyl-7-[β-D-ribofuranosyl]-guanin (14): 0.15 g **13** werden in 10 ccm bei 0° gesättigter *methanol*. Ammoniaklösung 4 Tage im Eisschrank aufbewahrt. Man engt auf ein kleineres Vol. ein, läßt in der Kälte stehen und saugt dann den Niederschlag ab (0.055 g). Umkristallisation aus 3 ccm Wasser und Trocknen i. Vak. bei 40° über P₂O₅ liefert 0.04 g (49%) farblose Kristalle vom Schmp. 255° (Zers.).

$C_{11}H_{15}N_5O_5$ (297.3) Ber. C 44.44 H 5.08 N 23.56 Gef. C 44.74 H 5.02 N 22.90