

Kay Schattka und Bernd Jastorff*

5'-Amino-5'-desoxyguanosin und seine 5'-N-substituierten Derivate¹⁾

Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Chemie,
D-3400 Göttingen, Hermann-Rein-Straße 3

(Eingegangen am 17. Juli 1972)

Eine modifizierte Synthese und bislang nicht bekannte Eigenschaften des 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosylguanosins (2) werden beschrieben. Zehn Derivate 7a–k des 5'-Amino-5'-desoxyguanosins mit verschiedenen Resten am 5'-Stickstoff wurden durch direkte Aminolyse von 5'-O-Tosylguanosin (4) mit primären Aminen synthetisiert. Die chemischen Eigenschaften der Guanosin-Analogen lassen sich durch den –NHR-Rest in gewünschter Weise verändern.

5'-Amino-5'-desoxyguanosine and its 5'-N-Substituted Derivatives

A modified synthesis and previously unknown properties of 2',3'-O-isopropylidene-5'-O-tosylguanosine (2) are described. Ten derivatives 7a–k of 5'-amino-5'-desoxyguanosine with different residues on the 5'-nitrogen were synthesized by direct aminolysis of the 5'-O-tosylguanosine (4) with primary amines. The chemical properties of the guanosine analogues can be modified in a predictable manner by the –NHR residue in the 5'-position.

Synthesen von 5'-Amino-5'-desoxy-Derivaten des Adenosins und Thymidins wurden von verschiedenen Autoren beschrieben^{2,3)}. In letzter Zeit berichteten Murayama et al.⁴⁾ über die Darstellung und Eigenschaften der 5'-N-Alkyl- bzw. 5'-N-Aryl-Derivate des 5'-Amino-5'-desoxyadenosins. Diese Verbindungsklasse diente den Autoren als Ausgangsmaterial zur einfachen Synthese von biologisch interessanten 5'-Amidoanalogen des Adenosin-(3',5')-cyclophosphats.

5'-Amino- sowie 5'-(Methylamino)- bzw. 5'-(Benzylamino)-5'-desoxyadenosin sind kompetitive Inhibitoren für das Enzym Adenosin-Kinase⁵⁾. Rohde⁶⁾ nutzte diese Eigenschaft der Aminonucleoside im Fall des Thymidins zur vereinfachten Isolierung der Thymidin-Kinase mit Hilfe eines an Sepharose gekoppelten 5'-Amino-5'-desoxy-thymidins.

1) Nucleotid-Analoga mit P–N-Bindung, VII; VI. Mitteil.: B. Jastorff und T. Krebs, Chem. Ber. 105, 3192 (1972).

2) B. Jastorff und H. Hettler, Chem. Ber. 102, 4119 (1969).

3) R. L. Letsinger und W. S. Mungall, J. org. Chemistry 35, 3800 (1970).

4) A. Murayama, B. Jastorff, F. Cramer und H. Hettler, J. org. Chemistry 36, 3029 (1971).

5) U. Kohl und G. Hartmann, Würzburg, persönliche Mitteilung.

6) W. Rohde und A. Lezius, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 352, 1507 (1971).

Alle bisher dargestellten Amino-Derivate des Adenosins und Thymidins ließen sich wesentlich problemloser phosphorylieren als die natürlichen Nucleoside^{2, 3, 4)}.

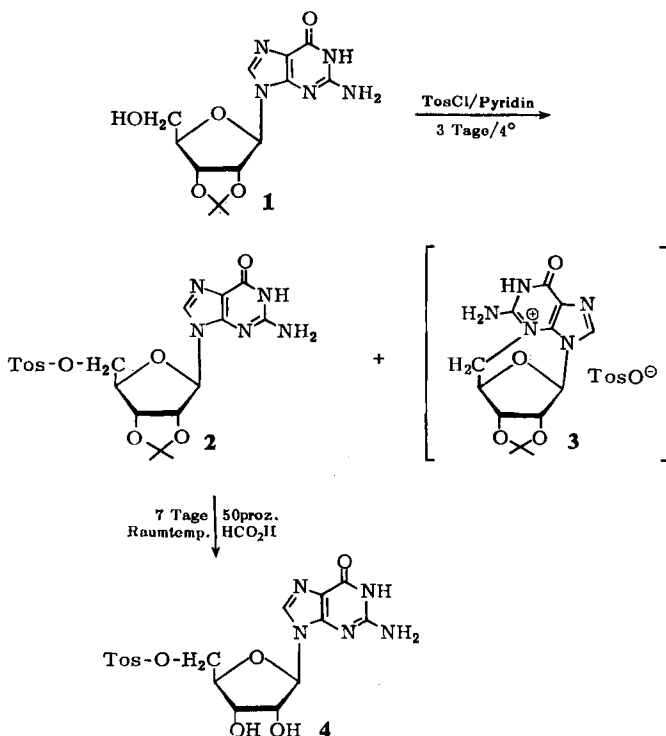
Das biologische Verhalten der Aminoadenosin- und -thymidin-Verbindungen sowie die Möglichkeit der vereinfachten Phosphorylierung veranlaßten uns, die entsprechenden Derivate des Guanosins zu untersuchen.

Über einen Syntheseweg zur Darstellung von 5'-Amino-5'-desoxyguanosin (**7a**) wurde bereits von verschiedenen Autoren berichtet^{7, 8)}. 5'-N-Alkyl- bzw. -N-Aryl-Derivate des Aminoguanosins sind bisher nicht beschrieben.

Murayama et al.⁴⁾ erhielten die N-substituierten 5'-Amino-5'-desoxyadenosin-Verbindungen durch Aminolyse des 5'-O-Tosyladenosins mit einem primären Amin⁴⁾.

Diesem Reaktionsweg folgend synthetisierten wir zunächst das 5'-O-Tosylguanosin (**4**) durch protonenkatalysierte Abspaltung der Isopropylidengruppe aus dem bereits beschriebenen 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosylguanosin (**2**).

Bei der genauen Untersuchung der Synthese von **2** nach der Methode von Jahn⁷⁾ zeigte sich, daß man dabei bis zu 60% des 3,5'-Anhydroguanosins (**3**) erhielt. Auch das von Reist et al.⁹⁾ beschriebene Verfahren brachte keine besseren Ergebnisse.



⁷⁾ W. Jahn, Chem. Ber. **98**, 1705 (1965).

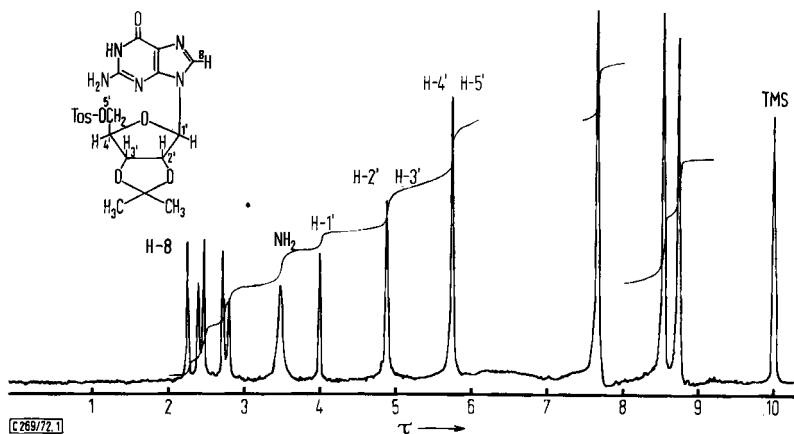
⁸⁾ M. G. Stout, M. J. Robins, R. K. Olsen und R. K. Robins, J. med. Chem. **12**, 658 (1969). Diese Autoren führten die Synthese bis zum geschützten Amin durch.

⁹⁾ E. J. Reist, P. A. Hart, L. Goodman und B. R. Baker, J. org. Chemistry **26**, 1557 (1961).

Führt man hingegen die Reaktion in Abwesenheit des Lösungsvermittlers *p*-Toluolsulfonsäure und bei tieferer Temperatur durch, läßt sich die Bildung von **3** weitgehend vermeiden.

Wir beobachten ferner, daß sich die Tosylverbindung **2** schon bei Raumtemperatur in einem dipolaren aprotischen Lösungsmittel (DMF, DMSO) in das Cyclonucleosid **3** umwandelt, während in der bisherigen Literatur hohe Temperatur als Voraussetzung für die Cyclisierung angesehen wurde¹⁰⁻¹²). Diese Reaktion kann man quantitativ sehr einfach NMR-spektroskopisch verfolgen, da das Proton 8-H sich in charakteristischer Weise von τ 2.24 nach 1.95 verschiebt¹³).

Die Verbindung **2** zeigt außerdem weitere sehr ungewöhnliche Eigenschaften, auf die in der Literatur bisher nicht eingegangen wurde. Neben einer starken Gelbfärbung bei der Synthese ist vor allen Dingen das NMR-Spektrum bemerkenswert (Abb.).



¹H-NMR-Spektrum von 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosylguanosin (**2**) in DMSO-d₆

Im Gegensatz zu den bisher untersuchten Guanosinverbindungen erscheinen bei **2** alle Zuckerprotonen als Singulets, deren chemische Verschiebungen teilweise identisch sind. Sobald die Struktur durch Abspaltung der Isopropylidengruppe oder durch Cyclisierung verändert wird, treten die Kopplungen wieder auf. Über die Ursachen und die Bedeutung dieser ungewöhnlichen Erscheinung wird an anderer Stelle berichtet werden.

Die Konkurrenzreaktion der Cyclonucleosidbildung beeinträchtigt auch die Ausbeute an unsubstituiertem Aminoguanosin **7a** (27–35%) nach dem von *Jahn*⁷⁾ und *Stout et al.*⁸⁾ beschriebenen Verfahren, bei dem **2** zunächst bei 90° ins 5'-Azid übergeführt und dieses nach Abspaltung der Isopropylidengruppe hydrogenolytisch zu **7a** reduziert wird.

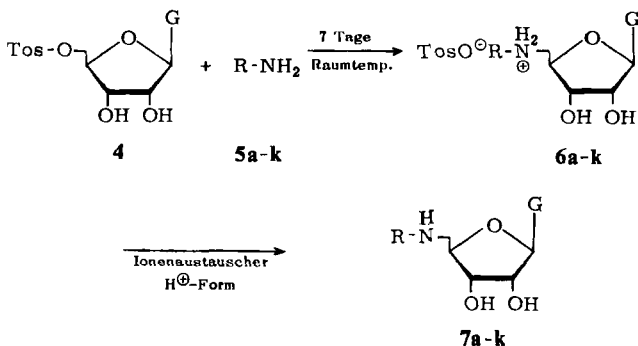
¹⁰⁾ V. M. Clark, A. R. Todd und Z. Zussman, J. chem. Soc. [London] **1951**, 2952.

¹¹⁾ R. E. Holmes und R. K. Robins, J. org. Chemistry **28**, 3483 (1963).

¹²⁾ R. W. Chambers, J. G. Moffatt und H. G. Khorana, J. Amer. chem. Soc. **79**, 3747 (1957).

¹³⁾ Eine entsprechende Untersuchung mit der ungeschützten Tosylverbindung **4** zeigte, daß diese Verbindung unter den gleichen Bedingungen keine Cyclisierungstendenz aufweist.

Bei der von uns durchgeführten Synthese von **7a** durch Aminolyse von 5'-*O*-Tosylguanosin (**4**) in flüssigem Ammoniak und anschließende Behandlung mit Ionenaustauscher (H⁺-Form) ist die Cyclonucleosidbildung nahezu vollständig unterdrückt. Damit ließ sich die Ausbeute an **7a** auf über 90% steigern. Setzt man hingegen die geschützte 5'-*O*-Tosylverbindung **2** in die Reaktion ein, beobachtet man eine Vielzahl von Nebenprodukten, vornehmlich wieder das Cyclonucleosid **3**.



R	R
a H	f CH ₃ OCH ₂ CH ₂
b n-C ₄ H ₉	g CH ₃ OCH ₂ CH ₂ CH ₂
c i-C ₄ H ₉	h (CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ CH ₂
d n-C ₈ H ₁₇	i C ₆ H ₅ CH ₂
e H ₂ C=CHCH ₂	k Cyclohexyl

Die 5'-*N*-substituierten 5'-Ammonioguanosin-*p*-toluolsulfonate **6b–k** ließen sich durch Lösen von **4** in den entsprechenden primären Aminen **5b–k** während 7 Tagen bei Raumtemperatur ebenfalls in sehr guten Ausbeuten darstellen. Die Freisetzung der Aminoguanosin-Derivate **7a–i** mit schwach saurem Ionenaustauscher verläuft quantitativ. Unterschiede in der Aufarbeitung beschränken sich auf das Überführen der Salze **6** auf den Ionenaustauscher*) und auf das Freisetzen der Amine (**7a–i**) mit verschieden konzentrierter Ammoniaklösung (s. exp. Teil). Einschränkende Kriterien für die Auswahl des Amins **5** sind dessen *pK*-Wert und Schmelzpunkt. So ließ sich z. B. bei Anilin (*pK* = 4.58) auch nach 7 Tagen keinerlei Umsetzung nachweisen. Die Basizität der Aminogruppe reicht offensichtlich nicht aus, die Tosylgruppe nucleophil zu substituieren. Die Schwierigkeiten bei der Umsetzung mit festen Aminen liegen nicht im Reaktionsmechanismus. Temperaturen oberhalb ihres Schmelzpunktes scheiden aus, da sich nur bei Raumtemperatur kaum Cyclonucleosid bildet. Die Umsetzung in inerten Lösungsmitteln scheint erfolgreich zu verlaufen, jedoch ist es bisher nicht gelungen, eine geeignete Aufarbeitungsmethode zu finden.

Die Aminoguanosin-Derivate **7a–k** stellen einen repräsentativen Querschnitt der nach unserer Methode in die 5'-Position einführbaren Reste RNH dar. Die Eigenschaften der Verbindungen werden entscheidend durch R geprägt. So ändert sich

*) Das 5'-(Cyclohexylamino)-5'-desoxyguanosin (**7k**) wurde vom Ionenaustauscher nicht festgehalten. Eine modifizierte Aufarbeitung ist im exp. Teil angegeben.

z. B. der lipophile Charakter, bestimmbar durch den R_F -Wert in Papier- und Dünnschichtchromatographie bzw. das Lösungsverhalten in Wasser und organischen Lösungsmitteln (s. Tabelle) in Abhängigkeit von R.

Der Einfluß der 5'-Substitution auf das Verhalten des Guanosins in biologischen Systemen wird zur Zeit untersucht. Sollte man auch dabei charakteristische Unterschiede in Abhängigkeit vom Rest R finden, bietet die nahezu universelle Methode der Aminolyse von 5'-O-Tosylguanotin die Möglichkeit, gezielt auch das biologische Verhalten des Guanosins zu verändern.

Herrn Prof. Dr. F. Cramer danken wir für das Wohlwollen und die Unterstützung, die er der Arbeit entgegengebracht hat.

Unser Dank gilt aber auch Herrn Dr. H. M. Schiebel für das Messen der NMR- und Massenspektren sowie Herrn H. Ahrberg für seine ausgezeichnete technische Assistenz.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen

Die UV-Spektren wurden im Spektralphotometer Unicam SP 1800, die IR-Spektren mit dem Infracord der Firma Perkin-Elmer gemessen. Die NMR-Spektren wurden mit dem Gerät Varian Modell HA-100 bzw. dem Multikern-Spektrometer HX-60/4-12 der Firma Bruker Physik AG, die Massenspektren mit einem MS-9-Gerät der Firma AEI bei einer Ionisierungsenergie von 70 eV aufgenommen. Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Ausbeuten wurden dünn-schichtchromatographisch mit dem Vitatron-Dünnschicht-Densitometer TLD 100 bestimmt.

Zur Erkennung funktioneller Gruppen auf Dünnschichtplatten bzw. Papier dienten Anfärbereagenzien der Firma Merck¹⁴⁾. Das primäre Amin **7a** wurde mit Ninhydrin (Nr. 232) violett, die sekundären Amine **7b-k** wurden mit dem Nitroprussidnatrium-Acetaldehyd-Reagenz (Nr. 241) blau angefärbt. Der Nachweis freier vicinaler Hydroxylgruppen wurde mit Benzidin-Perjodat (Nr. 218) geführt. *p*-Toluolsulfonsäure wies man mit Pinacrytolgelb (Nr. 268) nach.

Papierchromatographie: Papier Schleicher & Schüll 2043 b Mgl, Laufmittel n-Propanol/konz. Ammoniak/Wasser (7:1:2) (A) bzw. 1 M Ammoniumacetat/Äthanol (3:7) (B).

Dünnschichtchromatographie: Für analytische Zwecke wurden Kieselgel DC Fertigplatten F 254, für präparative Trennungen Silicagel PF 254 Platten (Merck AG) verwendet. Laufmittelsysteme A bzw. B bzw. Aceton/Benzol/Wasser (8:2:1) (C). Zur Bestimmung der R_F -Werte wurde Thymidin als Bezugssubstanz gleich 1 gesetzt.

Elektrophorese: Papier Schleicher & Schüll 2043b Mgl, Laufmittel 0.05 M Ammoniumformiat-Puffer pH 3.5 (E). Die elektrophoretischen Beweglichkeiten wurden auf Guanosin-(3',5')-cyclophosphat bezogen.

An NMR-Daten wurden nur für neueingeführte Gruppen beweisende Signale aufgeführt. Interner Standard: Tetramethylsilan: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quintett, m = Multipllett. Lösungsmittel DMSO- d_6 .

Die UV-Spektren wurden in Methanol (a), wäßr. Salzsäure (pH 1.9) (b) bzw. Natronlauge (pH 11.2) (c) gemessen.

¹⁴⁾ Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papierchromatographie, E. Merck, Darmstadt (1970). Die Zahlen in Klammern geben die Reagenziennummern im Merck-Verzeichnis an.

Da die relativen Intensitäten je nach Meßtemperatur stark schwankten, wird diese bei den Massenspektren jeweils angegeben. M = Molekularpeak, B = Base, F = Basenfragmente bei m/e 135, 134, 110, 109, 108¹⁵⁾.

Die Elementaranalysen wurden vom „Mikroanalytischen Laboratorium Beller“ in Göttingen durchgeführt.

Den schwach sauren Ionenaustauscher Merck IV bereitete man wie folgt vor: 500 g dieses Austauschers wurden vor der ersten Benutzung mit mindestens 6 l Methanol (bis keine UV-Aktivität (!) mehr vorhanden) und dann mit Wasser gewaschen. Anschließend belud man einmal mit 2 N Ammoniaklösung und regenerierte mit 3proz. Salzsäure.

2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosylguanosin (2): 16.5 g (50 mmol) 2',3'-O-Isopropylidenguanosin (1) wurden in 250 ml absol. Pyridin suspendiert. Innerhalb von 15 min gab man bei Raumtemp. unter Rühren 16.25 g (85 mmol) Tosylchlorid zu. Die hellgelbe Lösung wurde in zunehmendem Maße viskoser. Nach ca. 20 min war ein festes Gel entstanden. Es wurde noch weitere 30 min bei Raumtemp. geschüttelt. Nach dreitägigem Aufbewahren im Kühlschrank wurde ein großer Teil des Pyridins abgedampft und der Rückstand in 500 ml gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung suspendiert. Den hellgelben Niederschlag filtrierte man ab und wusch mit 250 ml der Hydrogencarbonatlösung. Nach erneutem Suspendieren des Filterrückstandes in 250 ml Wasser, Filtrieren und Wiederholen des Vorganges mit Äthanol wurde das farblose Produkt mit Äther gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Eine Probe wurde aus Acetonitril kristallisiert. Ausb. 18.25 g (76%), Schmp. 289–291° (Lit.⁹⁾: 288–289°.

UV¹⁶⁾: λ_{\max} = 255; 272 nm (Schulter) (a), 256; 282 (Schulter) (b), 264 (c).

IR: scharfe Banden bei 1361 (ν antisym S=O) und 1176 cm^{-1} (ν sym S=O).

NMR¹⁶⁾: τ 2.24 (s, 1H); 2.42 (d, J = 8 Hz, 2H); 2.76 (d, J = 8 Hz, 2H); 3.47 (s, 2H); 3.99 (s, 1H); 4.88 (s, 2H); 5.74 (s, 3H); 7.66 (s, 3H); 8.53 (s, 3H); 8.72 (s, 3H).

Massenspektrum¹⁶⁾ (185°): m/e 459 (1%) $M^+ - H_2O$; 305 (100%) $M^+ - C_7H_8O_3S$; 176 (55%) $C_7H_6N_3O$; 172 (75%) $C_7H_8O_3S$; 151 (35%) B + 1; F; 91 (75%) Tropylium-Kation.

R_F -Werte¹⁶⁾: Papierchromatographie: 0.99 (A); 1.12 (B), Dünnschichtchromatographie: 1.21 (A); 1.14 (C).

2',3'-O-Isopropyliden-guanosin-(3,5')-cyclonucleosid, *p*-Toluolsulfonat (3): Beim Verwenden von Toluolsulfonsäure als Lösungsvermittler für 2',3'-O-Isopropylidenguanosin (1) in Pyridin oder beim Stehenlassen des obigen Reaktionsansatzes bei Raumtemp. bildeten sich bis zu 60% des cyclischen Produktes 3. Diese Verbindung erhielt man auch quantitativ beim mehrtägigen Stehenlassen einer Lösung von 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosylguanosin (2) in Dimethylsulfoxid bzw. Dimethylformamid. Der Schmp. des Salzes liegt oberhalb von 300° (Lit.¹¹⁾: > 300°).

UV¹⁶⁾: λ_{\max} 263, λ_{\min} 252 nm (a), keine für Guanosinderivate charakteristische Schulter.

IR: *p*-Toluolsulfonatbanden bei 1036 und 1014 cm^{-1} (beide ν sym S=O).

NMR¹⁶⁾: τ 1.95 (s, 1H); 2.50 (d, J = 8 Hz, 2H); 2.90 (d, J = 8 Hz, 2H); 3.51 (s, 1H); 5.01 (d, J = 6 Hz, 1H); 5.12 (s, 1H); 5.48 (d, J = 6 Hz, 1H); 7.73 (s, 3H); 8.55 (s, 3H); 8.76 (s, 3H).

Massenspektrum¹⁶⁾ (275°): $C_{13}H_{16}N_3O_4 \cdot C_7H_7O_3S$ (477.5), m/e 306 (5%) M^+ ; 305 (6%) $M^+ - 1$; 151 (15%) B+1; F; 149 (10%) B-1; 82 (86%); 67.59 (100%).

R_F -Werte¹⁶⁾: Papierchromatographie: 0.84 (A); 0.71 (B), Dünnschichtchromatographie: 0.95 (A); 0.47 (C).

¹⁵⁾ J. M. Rice und G. O. Dudek, J. Amer. chem. Soc. **89**, 2719 (1967).

¹⁶⁾ Erläuternde Angaben siehe allgemeine Bemerkungen.

Schmelzpunkte, Ausbeuten, Analysen und spektroskopische Daten der

-5'-desoxyguanosin	Ausb. ¹⁶⁾ (%)	Schmp. ¹⁶⁾	Analyse ¹⁶⁾		UV λ_{\max} (nm) Methanol pH 1.9 pH 11.2	¹ H-NMR (τ) J(Hz)
			Ber.	Gef.		
5'-Amino- (7a) C ₁₀ H ₁₄ N ₆ O ₄ · 0.5 H ₂ O (291.3)	90	221°	C 41.23 H 5.24 N 28.85	C 41.86 H 5.36 N 28.8	254, Schulter 272 255, Schulter 278 263, —	5.31 (Berg, NH ₂)
5'-(Butylamino)- (7b) C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₄ (338.4)	90	171°	C 49.69 H 6.55 N 24.83	C 49.78 H 6.66 N 24.55	255, Schulter 270 255, Schulter 278 262, —	9.0–9.4 (m, 3H) 8.8–9.0 (m, 6H)
5'-(Isobutylamino)- (7c) C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₄ (338.4)	85	174°	C 49.69 H 6.55 N 24.83	C 49.88 H 6.67 N 24.66	254, Schulter 271 256, Schulter 278 262, —	9.16 (d, J = 7, 6H) 8.1–8.6 (m, 1H) 7.64 (d, J = 6, 2H)
5'-(Octylamino)- (7d) C ₁₈ H ₃₀ N ₆ O ₄ (394.5)	85	239°	C 54.81 H 7.67 N 21.30	C 54.65 H 7.68 N 21.07	253, Schulter 269 255, Schulter 278 260, —	9.0–9.3 (m, 3H) 8.3–9.0 (m, 14H)
5'-(Allylamino)- (7e) C ₁₃ H ₁₈ N ₆ O ₄ (322.3)	80	209°	C 48.44 H 5.63 N 26.07	C 48.57 H 5.67 N 26.00	254, Schulter 271 255, Schulter 278 263, —	6.81 (d, J = 5, 2H) 4.7–5.1 (m, 2H) 4.0–4.4 (m, 1H)
5'-(2-Methoxy- äthylamino)- (7f) C ₁₃ H ₂₀ N ₆ O ₅ (340.3)	90	136°	C 45.88 H 5.92 N 24.69	C 45.97 H 6.04 N 24.62	253, Schulter 273 256, Schulter 277 262, —	7.27 (t, J = 3, 2H) 6.78 (s, 3H) 6.64 (t, J = 3, 2H)
5'-(3-Methoxy- propylamino)- (7g) C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₅ (354.4)	90	147°	C 47.45 H 6.26 N 23.72	C 47.42 H 6.43 N 23.67	255, Schulter 270 255, Schulter 280 263, —	8.38 (q, J = 3, 2H) 7.42 (t, J = 3, 2H) 6.82 (s, 3H) 6.64 (t, J = 3, 2H)
5'-[3-(Dimethyl- amino)propylamino]- (7h) C ₁₅ H ₂₅ N ₇ O ₄ (367.4)	65	203°	C 49.04 H 6.86 N 26.69	C 49.03 H 6.98 N 26.60	254, Schulter 270 254, Schulter 276 263, —	8.40–8.60 (m, 2H) 7.91 (s, 6H) 7.60–7.90 (m, 2H) 7.30–7.50 (m, 2H)
5'-(Benzylamino)- (7i) C ₁₇ H ₂₀ N ₆ O ₄ (372.4)	85	213–215°	C 54.83 H 5.41 N 22.57	C 54.61 H 5.56 N 22.57	255, Schulter 270 256, Schulter 280 258, —	6.25 (s, 2H) 2.60–2.80 (m, 5H)
5'-(Cyclohexyl- amino)- (7k) C ₁₆ H ₂₄ N ₆ O ₄ (364.4)	77	224°	C 52.74 H 6.64 N 23.06	C 52.70 H 6.77 N 23.01	255, Schulter 273 256, Schulter 278 263, —	8.80–9.40 (m, 5H) 8.20–8.80 (m, 5H) 7.20–7.70 (m, 1H)

5'-O-Tosylguanosin (4): 4.77 g (10 mmol) 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosylguanosin (2) wurden bei Raumtemp. mit 200 ml 50proz. Ameisensäure gerührt. Nach 3 d war die Lösung klar und schwach braun gefärbt. Der Gang der Reaktion wurde dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Am siebenten Tag dampfte man die Ameisensäure ab, versetzte den harzigen Rückstand mit 100 ml Äthanol und rührte über Nacht. Am nächsten Tag wurde der flockige Niederschlag abgesaugt und mit Äthanol und Äther gewaschen. Ausb. 4.37 g (quantitativ), Schmp. 224°. Nachweis auf freie vicinale OH-Gruppen¹⁶⁾ positiv.

C₁₇H₁₉N₅O₇S (437.4) Ber. C 46.68 H 4.38 N 16.01 S 7.33
Gef. C 46.85 H 4.51 N 16.07 S 7.37

UV¹⁶⁾: λ_{\max} 256; 272 nm (Schulter) (a), 257; 280 (Schulter) (b), 259 (c).

IR: Tosylbanden (ν antisym S=O bzw. ν sym S=O) bei 1361 bzw. 1176 cm⁻¹.

Amine 7a – k sowie deren Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln

Massenspektrum <i>m/e</i> (relat. Int.) (MelBtemp.) ¹⁶⁾	Elektro- phorese ¹⁶⁾ E	<i>R_F</i> -Werte ¹⁶⁾ Papier- chromatographie		Dünnschicht- chromatographie		Löslichkeit (mmol/l) in CH ₃ OH H ₂ O Puffer pH 7	<i>pK_a</i> -Werte der zugrunde- liegenden Amine ¹⁸⁾
		A	B	A	B		
282 (1%) M ⁺¹⁶⁾ 151 (100%) B + 1 ¹⁶⁾ F ¹⁶⁾ (265°)	-0.75	0.18	0.56	0.29	0.29	1.6 1.6 5.5	9.21
338 (1.5%) M ⁺ ; 169 (80%) M ⁺ - C ₉ H ₁₆ NO ₂ ; 151 (100%) B + 1; F (285°)	-0.69	0.97	0.90	0.62	0.76	> 7.5 > 7.5 > 7.5	10.59
282 (55%) M ⁺ - C ₄ H ₈ ; 169 (98%) M ⁺ - C ₉ H ₁₆ NO ₂ ; 151 (98%) B + 1; F; 126 (100%) C ₅ H ₄ NO ₃ (280°)	-0.72	0.98	0.90	0.60	0.73	> 7.5 > 7.5 > 7.5	10.56
394 (1.5%) M ⁺ ; 151 (100%) B + 1; F; 126 (100%) C ₅ H ₄ NO ₃ (300°)	-0.54	1.24	1.05	0.64	0.77	5.0 0.26 0.5	10.65
151 (100%) B + 1; F; 126 (10%) C ₅ H ₄ NO ₃ (285°)	-0.76	0.69	0.80	0.55	0.62	5.6 > 7.5 > 7.5	9.49
304 (76%) M ⁺ - 2H ₂ O; 292 (6%) M ⁺ - CH ₄ O ₂ ; 151 (100%) B + 1; F; 126 (100%) C ₅ H ₄ NO ₃ (250°)	-0.76	0.75	0.83	0.51	0.52	6.0 > 7.5 > 7.5	—
318 (5%) M ⁺ - 2H ₂ O; 306 (5%) M ⁺ - CH ₄ O ₂ ; 151 (100%) B + 1; F; 126 (100%) C ₅ H ₄ NO ₃ (265°)	-0.75	0.64	0.85	0.44	0.53	> 7.5 > 7.5 > 7.5	—
280 (8%) M ⁺ - C ₅ H ₁₃ N; 151 (94%) B + 1; F; 58 (100%) C ₇ H ₈ N (250°)	-1.18	0.63	0.72	0.20	0.05	4.9 > 7.5 > 7.5	9.91 ¹⁹⁾
280 (10%) M ⁺ - C ₇ H ₈ ; 203 (25%) M ⁺ - C ₉ H ₁₆ NO ₂ ; 151 (40%) B + 1; 106 (98%) M ⁺ - C ₇ H ₈ N; 91 (100%) C ₇ H ₇ ; (275°)	-0.64	0.83	0.90	0.61	0.79	3.8 2.6 5.3	9.34
195 (85%) M ⁺ - C ₉ H ₁₆ NO ₂ ; 151 (100%) B + 1; 152 (98%) B + 2; F; (300°)	-0.30	1.02	1.04	0.83	0.90	3.5 2.9 2.8	10.64

NMR¹⁶⁾: keine Isopropylidenprotonen bei τ 8.72 und 8.43 ppm.

Massenspektrum¹⁶⁾ (350°): *m/e* 436, 435 (<1%) M⁺-1, M⁺-2; 409 (<5%) M⁺-H₂O; 172 (75%) C₇H₈SO₃; 151 (25%) B + 1; F; 91 (100%) Tropylium-Kation.

R_F-Werte¹⁶⁾: Papierchromatographie: 0.94 (A); 0.90 (B), Dünnschichtchromatographie: 0.86 (A); 0.88 (C).

Allgemeine Vorschriften zur Darstellung von 5'-N-substituierten 5'-Amino-5'-desoxyguanosin-Derivaten und 5'-Amino-5'-desoxyguanosin

a) *5'-N-Substituierte 5'-Amino-5'-desoxyguanosin-p-toluolsulfonate (6b-i)*: 2.2 g (5 mmol) 5'-O-Tosylguanosin (4) wurden 24 h i. Hochvak. über P₄O₁₀ getrocknet und anschließend mit 40 ml flüssigem primärem Amin versetzt. 4 ging nach kurzer Zeit in Lösung. Nach 7-tägigem

Schütteln bei Raumtemp. wurde die bräunliche Reaktionslösung langsam in 3 l Diäthyläther getropft, der feinverteilte Niederschlag nach Rühren über Nacht abfiltriert und mit Äther gewaschen. Nach Trocknen i. Hochvak. erhielt man ein farbloses Pulver. Das Reaktionsprodukt enthielt neben dem gesuchten Produkt bis zu 10% Cyclonucleosid.

Wenn in 6 mit Ninhydrin noch freies primäres Amin nachgewiesen wurde, löste man den gesamten Ansatz erneut in wenig Amin und wiederholte das Fälln und Waschen mit Äther.

b) *5'-Amino-5'-desoxyguanosin-p-toluolsulfonat (6a)*: In eine Glasbombe (25×3) mit langem Hals und Schliffansatz (NS 29) kondensierte man unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff 50 ml Ammoniak auf 2.2 g (5 mmol) *5'-O-Tosylguanosin (4)*. Das Ammoniak wurde vor der Verflüssigung über Ätzkali getrocknet. Nach Abschmelzen stellte man die Bombe in ein Dewargefäß mit flüssigem Stickstoff, ließ das Kühlmittel während 2 d langsam verdampfen¹⁷⁾ und konnte dann den Inhalt der Bombe mit Hilfe eines miteingeführten Magneten rühren. Nach 8 d wurde die Bombe nach erneutem Abkühlen geöffnet und das überschüssige Ammoniak abgedampft. Test auf primäres Amin¹⁶⁾: positiv.

IR: Im IR-Spektrum der Verbindungen 6a–i findet man anstelle der zwei scharfen Banden für die kovalent gebundene Tosylgruppe bei 1361 und 1176 cm⁻¹ zwei derartige für eine ionisch gebundene bei 1036 und 1074 cm⁻¹.

c) *Freisetzen der Amine 7a–i aus ihren Salzen 6a–i*: Das jeweilige Rohprodukt wurde in Wasser (6a–c, f, g, i) bzw. Wasser/Dioxan (6d) bzw. Wasser/Methanol (6e, h) gelöst und auf eine Säule mit gut gereinigtem Ionenaustauscher (Merck IV, schwach sauer)¹⁶⁾ gegeben. Die *p*-Toluolsulfonsäure, das Cyclonucleosid und alle anderen Verunreinigungen wusch man mit 6–8 l Wasser herunter. Sobald das Waschwasser keine UV-Absorption mehr aufwies, wurde das entsprechende Aminoguanosin mit 0.5 M (7a) bzw. 1–2 M (7b, c, e, f–i) bzw. 3 M (7d) Ammoniaklösung freigesetzt. Die wäbr. Lösungen dampfte man ein. Der Rückstand ergab nach Behandlung mit Äthanol und Trocknen i. Hochvak. analysenreine Amine (s. Tab.).

Test auf sekundäre Amine¹⁶⁾ (bei 7b–i) und auf primäre Amine¹⁶⁾ (bei 7a): jeweils positiv. Test auf freie, vicinale OH-Gruppen¹⁶⁾: positiv. IR: keine *p*-Toluolsulfonatbanden.

5'-(Cyclohexylamino)-5'-desoxyguanosin (7k): 500 mg (1.37 mmol) *5'-O-Tosylguanosin (4)* wurden in 25 ml Cyclohexylamin 7 d bei Raumtemp. geschüttelt. Danach wurde die klare gelbe Lösung auf 5 ml eingengt und anschließend in 2 l Äther getropft. Der ausfallende Niederschlag wurde nach 24 h Rühren abgesaugt und getrocknet. Das isolierte Salz enthielt etwa 10% Verunreinigungen.

540 mg (1 mmol) des Tosylats 6k wurden in 1.5 ml Dimethylformamid gelöst. Nach Zugabe von einigen Tropfen Wasser fiel ein Teil (30%) von 7k in kristalliner Form (farblose Stäbchen) aus. Das restliche 7k (37%) wurde durch präparative Schichtchromatographie im System D, durch die die *p*-Toluolsulfonsäure, restliches Cyclohexylamin und andere Verunreinigungen abgetrennt wurden, isoliert. Ausb. 280 mg (77%). Test auf sekundäre Amine¹⁶⁾: positiv. Test auf freie vicinale OH-Gruppen¹⁶⁾: positiv. IR²⁰⁾: keine *p*-Toluolsulfonatbanden.

¹⁷⁾ Die Einzelheiten werden so ausführlich behandelt, weil bei Nichtbeachtung zum Teil heftige Explosionen auftraten.

¹⁸⁾ H. K. Hall jr., J. Amer. chem. Soc. **79**, 544 (1957).

¹⁹⁾ J. Hine, F. A. Via und J. H. Jensen, J. org. Chemistry **36**, 2926 (1971).

²⁰⁾ Weitere spektroskopische und andere strukturbeweisende Daten s. Tab.