

Notiz zum Mechanismus der *Dimroth*-Umlagerung am Adeninring

Gerd Grenner und Hanns-Ludwig Schmidt*

Lehrstuhl für Allgemeine Chemie und Biochemie der Technischen Universität München, D-8050 Freising-Weihenstephan

Eingegangen am 20. April 1976

1909 beschrieb *Dimroth*¹⁾ eine alkalikatalysierte Umlagerung von 1-substituierten 5-Aminotriazol-Derivaten zu Isomeren mit dem Substituenten an der Aminogruppe. Eine entsprechende Reaktion beobachtet man bei allen *N*-substituierten Heterocyclen, die in α -Stellung zum alkylierten N-Atom eine Aminogruppe tragen. Quartäre 1-Derivate von Adenin isomerisieren z. B. zu den an der Aminogruppe substituierten Verbindungen. Da die Umsetzung von Adenin mit Alkylierungsmitteln vornehmlich zur Einführung von Substituenten in Position 1 des Ringes führt²⁾, sind so die für enzymologische Untersuchungen und für Zwecke der Affinitätschromatographie benötigten *N*-Alkyl-NAD⁺-Derivate zugänglich³⁻⁵⁾.

Bereits *Windmueller* und *Kaplan*³⁾ machten wahrscheinlich, daß die *Dimroth*-Umlagerung der Adeninabkömmlinge unter Öffnung des Pyrimidinringes verläuft. Ein Beweis für diesen Mechanismus wurde jetzt unabhängig von *Engel*⁶⁾ und von uns⁷⁾ erbracht. *Engel* zeigte den Platzwechsel der N-Atome aus der Aminogruppe und der Position 1 durch Vergleich der Protonenresonanzen des [¹⁵NH₂]-1-Methyladenins und des Umlagerungsproduktes. Unsere Untersuchungen an [¹⁵NH₂]-1-(2-Hydroxyethyl)adenosin wurden durch ¹⁵N-Kernresonanz und durch massenspektrometrische Fragmentierung durchgeführt.

Ausgangsprodukt war [¹⁵NH₂]Adenosin (1). Die Verbindung hatte, bezogen auf [¹⁵N]Glycin als externen Standard, ein ¹⁵N-Kernresonanzsignal bei 48.2 ppm*). Das markierte Nucleosid wurde bei pH 6.5 mit Ethylenoxid umgesetzt; anschließend wurde das bei dieser Reaktion erhaltene [¹⁵NH₂]-1-(2-Hydroxyethyl)adenosin (2) bei pH 11.0 zu [¹⁵N¹]-*N*⁶-(2-Hydroxyethyl)adenosin (3) isomerisiert. Im protonenentkoppelten Spektrum der Verbindung wurde eine ¹⁵N-Resonanz bei $\delta = 192.5$ ppm gefunden (externer Standard [¹⁵N]Glycin), die ohne Entkopplung zu einem Dublett mit einer Kopplungskonstanten von 15 Hz aufspaltete; diese Signale sind einer ¹⁵N-Resonanz für das N-Atom in Position 1 zuzuordnen.

Da sich 3 nicht direkt zur Massenspektrometrie eignet, wurde die Glycosidbindung hydrolytisch gespalten. Das so erhaltene [¹⁵N¹]-*N*⁶-(2-Hydroxyethyl)adenin (4) ergab im Massenspektrum erwartungsgemäß anstelle des Molekül-Ions für die nichtmarkierte Verbindung ($m/e = 179$) einen Peak für das Molekül-Ion bei $m/e = 180$. Die Fragmentierung der Verbindung führt u. a.

* Die ¹⁵N-Kernresonanzmessungen wurden im Institut für Physikalische Chemie der Universität Münster durchgeführt und ausgewertet; wir danken Herrn Prof. Dr. H. Rüterjans für die freundliche Hilfe.

¹⁾ O. *Dimroth*, Liebigs Ann. Chem. 364, 183 (1909).

²⁾ P. *Brooks* und P. D. *Lawley*, J. Chem. Soc. 1960, 539.

³⁾ H. G. *Windmueller* und N.-O. *Kaplan*, J. Biol. Chem. 236, 2716 (1961).

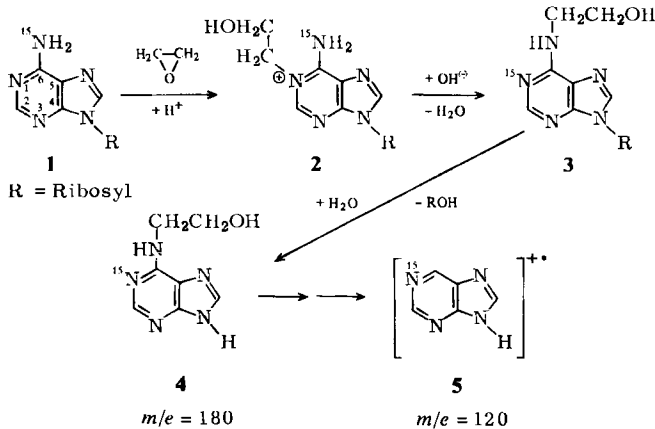
⁴⁾ P. *Zampelli*, A. *Rossodivita* und L. *Re*, Eur. J. Biochem. 54, 475 (1975).

⁵⁾ G. *Grenner*, H.-L. *Schmidt* und W. *Völkl*, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 357, 887 (1976).

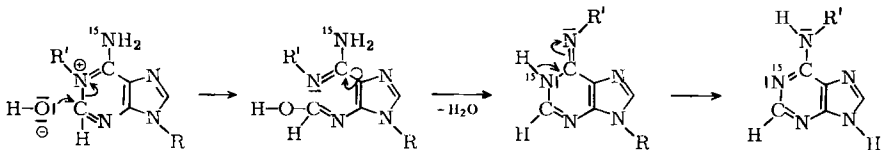
⁶⁾ J. D. *Engel*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 64, 581 (1975).

⁷⁾ G. *Grenner*, Dissertation, Techn. Univ. München-Freising 1975.

durch Abspaltung der gesamten Seitenkette zu einem Purin-Ion (**5**)⁸⁾; dieses wurde für die markierte Verbindung bei $m/e = 120$ gefunden, mußte also den schweren Stickstoff enthalten.



Der Nachweis des ^{15}N im aromatischen Ring nach der Isomerisierung durch beide Methoden beweist, daß durch die Reaktion der Aminostickstoff und der Stickstoff in Position 1 des Ringes ihre Plätze tauschen. Die Reaktion ist daher eine Umlagerung unter Öffnung des Pyrimidinringes. Sie ist als nucleophiler Angriff der OH^- -Ionen, Ringöffnung, Umlagerung und Wasserabspaltung zu formulieren. Ein entsprechender Mechanismus war für die Umlagerung von 1-Alkyl-2-aminopyridin früher von *Brown* gefunden worden⁹⁾.



Experimenteller Teil

[$^{15}\text{NH}_2$]-Adenosin (**1**): Zu der Lösung von 290 mg (1 mmol) 6-Chlorpurin-ribosid (Fluka, Buchs/Schweiz) in 25 ml n-Butanol in einem 50-ml-Bombenrohr wurden in einer Vakuumapparatur 2,5 mmol $^{15}\text{NH}_3$ (entwickelt mit *N*-Hydroxyethyl-1,3-propandiamin aus 133 mg $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$; 94,3 Atom-% ^{15}N , Isocommerz GmbH, Berlin-Buch/DDR) kondensiert. Man erwärmte 24 h auf 120°C, wobei nach dünnschichtchromatographischer Prüfung (Cellulose F₂₅₄, Fließmittel: gesätt. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung/Wasser/Isopropylalkohol = 80:18:2, R_f -Werte: Adenosin 0,15, 6-Chlorpurin-ribosid 0,30) 100proz. Umsatz erreicht wurde. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abgedampft; den Rückstand nahm man in 30 ml Wasser auf und chromatographierte die Lösung über eine Sephadex G 10-Säule (1,5 × 100 cm). Die das markierte Adenosin enthaltenden Fraktionen wurden lyophilisiert.

[$^{15}\text{N}^1$]-*N*⁶-(2-Hydroxyethyl)adenosin (**3**): 135 mg (0,5 mmol) **1** in 40 ml einer ca. 1 M Ethylenoxid-Lösung (gesätt. Lösung, entsteht in einem geschlossenen System in Ethylenoxid-Atmosphäre) wurden ca. 120 h bei 25°C und pH 6,5 gehalten (pH-Stat). Die Lösung wurde im Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Die Lösung von 100 mg des Rückstandes (**2** als Perchlorat, entspr. 0,4 mmol) in 5 ml Wasser wurde mit 1 N NaOH auf pH 11,0 eingestellt und 5 h auf 80°C

⁸⁾ J. S. Shannon und D. S. Letham, N. Z. J. Sci. 2, 833 (1966).

⁹⁾ D. Brown, Nature (London) 189, 828 (1961).

erwärmt. Dünnschichtchromatographisch wurde praktisch vollständige Umlagerung von 2 (R_F 0.80) in 3 (R_F 0.25) festgestellt.

[$^{15}N^1$]-*N*⁶-(2-Hydroxyethyl)adenin (4): Die Lösung von 100 mg 3 wurde mit 5 ml 2 N H_2SO_4 versetzt und 1 h auf 100 °C erwärmt. Bei 25 °C neutralisierte man dann mit 2 N NaOH und verdünnte mit Wasser auf 150 ml. Die Lösung wurde in Anteilen von 30 ml auf eine Sephadex G 10-Säule (1.5 × 100 cm) aufgetragen, die Produkte wurden mit Wasser eluiert. Die die Verbindung 4 (R_F 0.16) enthaltenden Fraktionen wurden lyophilisiert. Es wurden 20 mg (0.15 mmol) reines 4 erhalten. Ausb. ca. 35%, bezogen auf 6-Chlorpurin-ribosid.

Die ^{15}N -Kernresonanz-Messungen wurden mit einem Bruker Kernresonanz-Spektrometer HFX 90 mit FT-Technik, die massenspektrometrischen Untersuchungen mit einem LKB 9000 S-Massenspektrometer mit Direkteinlaß (70 eV Ionisationsspannung) durchgeführt; für die Aufnahme der Massenspektren danken wir Herrn Dr. H. Parlar vom Lehrstuhl für Ökologische Chemie am Institut für Chemie Weihenstephan.

[164/76]