

Aminonucleoside, VIII<sup>1)</sup>**3'-Amino-3'-desoxyadenosin, 3',5'-Diamino-3',5'-dideoxyadenosin und N-substituierte Derivate**

Michael Morr\* und Ludger Ernst

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH.,  
Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig-Stöckheim

Eingegangen am 29. November 1978

Es werden neue 3'-N-Alkyl-, 3'-N-Cycloalkyl- und 3'-N-Alkylaryl-derivate des 3'-Amino-3'-desoxyadenosins (1) bzw. des 3',5'-Diamino-3',5'-dideoxyadenosins (9) beschrieben. Zehn monosubstituierte Derivate 3a–j und vier disubstituierte Derivate 4a–d wurden erhalten durch Reaktion von 1 mit Aldehyden bzw. Ketonen und Natriumborhydrid in Acetatpuffer. Durch Reaktion des 3'-Benzylamino-3'-desoxyadenosins mit Formaldehyd erhielt man das Oxazolidinderivat 4g. Das 3'-N,N-Dimethylamino-3'-desoxyadenosin 4a ließ sich in Trimethylphosphat selektiv zum quartären 3'-N,N,N-Trimethylammoniumsalz 13 umsetzen. Die Konstitution der neuen Verbindungen wird vor allem aus ihren <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR- und Massenspektren abgeleitet.

Aminonucleosides, VIII<sup>1)</sup>**3'-Amino-3'-deoxyadenosine, 3',5'-Diamino-3',5'-dideoxyadenosine and Their N-Substituted Derivatives**

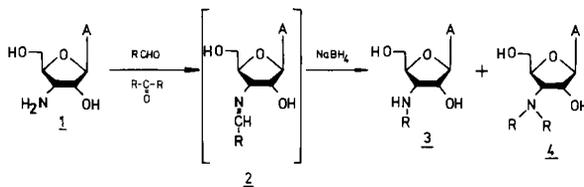
New 3'-N-alkyl, 3'-N-cycloalkyl and 3'-N-alkylaryl derivatives are described of 3'-amino-3'-deoxyadenosine (1) and of 3',5'-diamino-3',5'-dideoxyadenosine (9). Ten N-monosubstituted derivatives 3a–j and four N,N-disubstituted derivatives 4a–d were obtained by reacting 1 with aldehydes or ketones and NaBH<sub>4</sub> in acetate buffer. Reaction of 3'-benzylamino-3'-deoxyadenosine with formaldehyde gave oxazolidine 4g. 3'-N,N-Dimethylamino-3'-deoxyadenosine 4a was selectively quaternised in trimethyl phosphate to yield the 3'-N,N,N-trimethylammonium salt 13. The structures of the new compounds were derived mainly from their <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR and mass spectra.

Für die Synthese von biologisch interessanten 3'-Amido- bzw. 3',5'-Diamidoanalogen des Adenosin-3',5'-cyclothionphosphats benötigten wir als Ausgangsmaterial verschiedene 3'-N-substituierte Adenosinderivate sowie auch 3',5'-Diamino-3',5'-dideoxyadenosin (9)<sup>1a)</sup>. Diese Verbindungen sind hinsichtlich ihrer Antitumor- sowie ihrer antiviralen Eigenschaften von Interesse<sup>2,3)</sup>. 5'-N-substituierte Derivate des Adenosins<sup>4)</sup>, Thymidins<sup>5)</sup> und Guanosins<sup>6)</sup> wurden von verschiedenen Autoren beschrieben. Diese Verbindungsklasse diente u. a. als Ausgangsmaterial zur Synthese von bioaktiven 5'-Amidoanalogen des Adenosin-3',5'-cyclophosphats<sup>7)</sup>. Derivate des 5'-Amino-5'-desoxyadenosins sind kompetitive Inhibitoren für das Enzym Adenosin-Kinase<sup>6)</sup>. Murayama et al. und Schattka et al. erhielten die N-substituierten 5'-Amino-5'-desoxynucleoside durch Aminolyse der 5'-O-Tosylnucleoside mit primären Aminen<sup>6,7)</sup>.

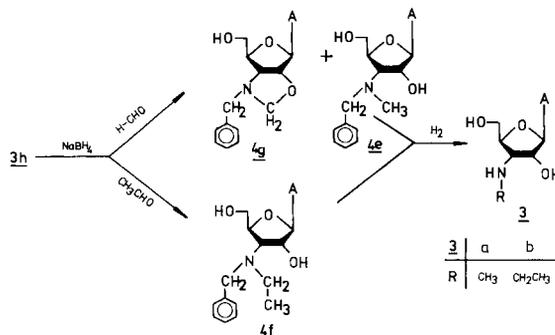
Da in dem Nucleosid-Antibiotikum 3'-Amino-3'-desoxyadenosin (**1**)<sup>8)</sup>, dem Grundbaustein des Puromycins, isoliert aus der Kulturbrühe von *Helminthosporium* s. p. 215, die 3'-Aminogruppe bereits vorhanden ist, mußte diese nach anderen Methoden alkyliert werden. Als sehr brauchbares Verfahren erwies sich hier die Anwendung der Methode von Schellenberg, nämlich die Darstellung von sekundären und tertiären Aminen durch Umsetzung von Aminen in Acetatspuffer mit Aldehyden bzw. Ketonen bei 0°C und Reduktion der nicht isolierten Schiffischen Basen mit Natriumborhydrid<sup>9)</sup>. Diese Methode eignet sich auch für die Synthese von Aminen, die Nitrogruppen oder andere empfindliche Substituenten enthalten.

**1** wurde in Acetatspuffer bei 0°C mit den entsprechenden Aldehyden bzw. Ketonen umgesetzt. Bei wasserunlöslichen Aldehyden bzw. Ketonen wurde in wäßrig-ethanolischer Lösung gearbeitet. Die Reduktion der nicht isolierten Schiffischen Basen **2** erfolgte durch portionsweise Zugabe von Natriumborhydrid. In allen Fällen wurde der Reaktionsverlauf, das Verschwinden von **1** und Bildung von **3** bzw. **4**, dünnstschichtchromatographisch verfolgt. Bei der Reaktion von **1** mit Formaldehyd bzw. Acetaldehyd erhält man unter den angegebenen Bedingungen nur die 3'-*N*-dialkylierten Verbindungen **4a** und **4b**. Bei den anderen Aldehyden resultieren Gemische von mono- und dialkylierten Verbindungen, die durch Säulenchromatographie an Anionenaustauscher in der OH-Form und Elution mit Wasser/Methanol-Mischungen nach der Methode von Dekker gut getrennt werden können<sup>10)</sup>.

3'-Methylamino- bzw. 3'-Ethylamino-3'-desoxyadenosin (**3a** bzw. **3b**) wurden durch Umsetzung des 3'-*N*-Benzylderivats **3h** mit Formaldehyd bzw. Acetaldehyd in Acetat-



	c	d	e	f	g	h	i	j
<b>3</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>		(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>			CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -NO <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>
<b>4</b>	a	b	c	d				
<b>R</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>				

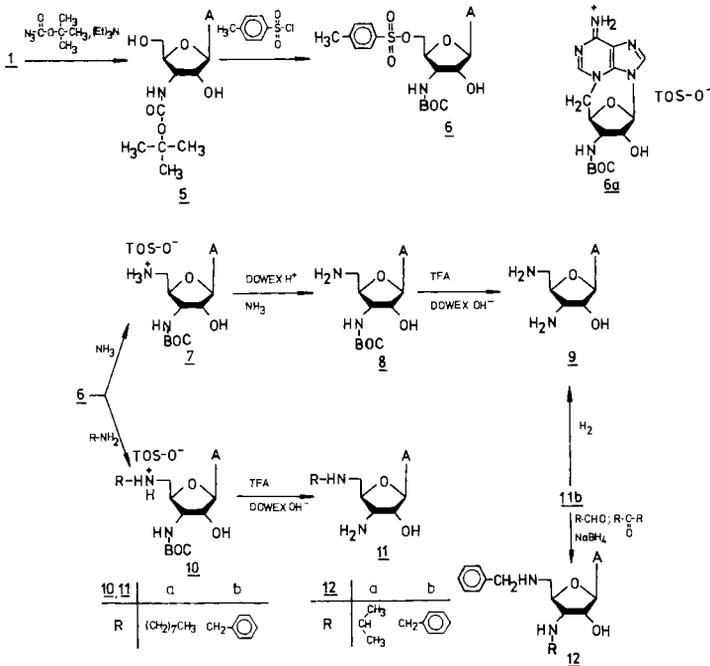


	a	b
<b>R</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

puffer und Natriumborhydrid gewonnen. Während der Reaktion von **3h** mit Formaldehyd fiel nach kurzer Zeit ein unlöslicher Niederschlag aus, der sich als Oxazolidin **4g** erwies. Auffallend ist die sehr gute Kristallisation von **4g**, die man durch Versetzen einer DMSO-Lösung mit Methanol erreicht. Nach Abtrennen von **4g** konnte aus dem Filtrat das 3'-(*N*-Benzyl-*N*-methylamino)-3'-desoxyadenosin (**4e**) durch Chromatographie an Dowex-OH isoliert werden.

Bei der hydrogenolytischen Abspaltung der Benzylgruppe aus **4e** und dem Ethylderivat **4f** mit Palladium/Aktivkohle in 90proz. Essigsäure<sup>9)</sup> erhielt man quantitativ **3a** und **3b**. Das 3'-Methylaminoderivat unterscheidet sich deutlich von den anderen *N*-Alkylderivaten hinsichtlich seines Laufverhaltens bei der DC an Kieselgel im Laufmittel E (Aceton/Benzol/1 *N* Ammoniak/Wasser 8:2:0.5:0.5). Während die anderen Derivate klare Flecken bilden, ist bei **3a** nur ein langgezogener Fleck zu erkennen. Dagegen erhält man im Laufmittel F (Isopropylalkohol/konz. Ammoniak/Wasser 7:1:2) an Kieselgel einen wohldefinierten Fleck. Eine Reaktion der NH<sub>2</sub>-Gruppe des Adeninringes mit Formaldehyd, wie von anderen Autoren beobachtet, wurde unter den angegebenen Reaktionsbedingungen nicht festgestellt<sup>11)</sup>. Die reduktive Alkylierung von **3h** mit Formaldehyd und Ameisensäure nach *Leuckart-Wallach* führte nicht zum Ziel<sup>12)</sup>.

Für die Darstellung des 3',5'-Diamino-3',5'-didesoxyadenosins (**9**) boten sich zwei Varianten der Tosylestermethode an. In Anlehnung an die Methode von *Schmidt et al.*<sup>13)</sup> wurde wie folgt verfahren.



Nach Einführung der 3'-*tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)-Schutzgruppe in **1** zum 3'-*tert*-Butyloxycarbonylamino-3'-desoxyadenosin (**5**) wurde in Pyridin mit der doppelten Menge

*p*-Toluolsulfochlorid zum 5'-*O*-Tosylat **6** umgesetzt. Eine Tosylierung der 2'-Hydroxylgruppe wurde nicht beobachtet, da diese vermutlich durch die sperrige Boc-Gruppe abgeschirmt und somit einem Angriff des überschüssigen Tosylchlorides nicht zugänglich ist. Bei dem 5'-Tosylat **6** ist zu beachten, daß eine Konkurrenz zwischen dem intermolekularen Angriff des nucleophilen Reaktionspartners (flüssiges Ammoniak bzw. die reinen Amine) und dem intramolekularen Angriff des N-3-Atoms des Adenins auf C-5' unter Cyclonucleosid-Bildung zu **6a** besteht. Bei den gewählten Reaktionsbedingungen (Raumtemperatur, Reaktion ohne Lösungsmittel) gelingt es jedoch, einen direkten nucleophilen Austausch der Tosylatgruppe zum Nucleosiddiamin zu erzielen und die Cyclonucleosidbildung **6a** im wesentlichen zu umgehen.

Mehrtägige Umsetzung von **6** mit flüssigem Ammoniak bei Raumtemperatur im Bombenrohr lieferte das Tosylatsalz **7**, das über einen schwach sauren Austauscher und Elution mit verdünntem Ammoniak in die freie Base, das 3'-*N*-Boc-3',5'-didesoxyadenosin **8**, übergeführt wurde. Nach Abspaltung der *N*-Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure (TFA) wurde das Diamin **9** mit etwa 80% Ausbeute isoliert.

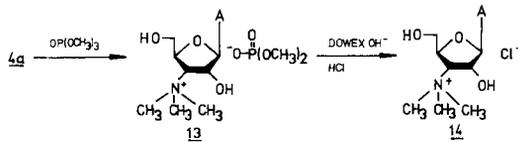
In der Reaktion mit Ninhydrin, bei der die 3'-Aminogruppe wesentlich langsamer und mit geringerer Farbintensität reagiert als die 5'-Aminogruppe, zeigt sich deren unterschiedliche Reaktivität. Der  $pK_a$ -Wert einer 3'-Aminogruppe liegt niedriger als der einer 5'-Aminogruppe<sup>14,15</sup>. Eigene Untersuchungen zur Bestimmung der  $pK_a$ -Werte der neuen Derivate sind noch nicht abgeschlossen.

Die Druckreaktion von **6** mit flüssigem Ammoniak zur Darstellung von **9** läßt sich umgehen, indem man Benzylamin mehrere Tage lang auf **6** einwirken läßt, wobei **10b** entsteht. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe aus **10b** erhält man das 3'-Amino-5'-benzylamino-3',5'-didesoxyadenosin (**11b**), das nach hydrogenolytischer Debenzylierung **9** liefert. Aus **6** lassen sich durch Reaktion mit anderen Aminen verschiedene 5'-*N*-Alkyl-Derivate von **9** herstellen. Z. B. erhielt man durch Umsetzung mit Octylamin und Abspaltung der Boc-Schutzgruppe das 3'-Amino-5'-octylamino-3',5'-didesoxyadenosin (**11a**).

Die Darstellung von 3'-Dimethylamino-3'-desoxyadenosin (**4a**) führte zu der Überlegung, inwieweit und unter welchen Bedingungen seine Überführung in das Quartärsalz möglich ist. *N*-Alkylierung des Basenteiles von Nucleinsäuren ist in den letzten Jahren untersucht worden, da sie chemisches und biologisches Interesse beansprucht. Als alkylierende Agenzien wurden Diazoalkane, Alkylsulfate, Alkylhalogenide und andere Verbindungen untersucht. *Yamauchi* et al. beschäftigten sich mit der Methylierung von Nucleinsäurebasen, wie Cytosin, Thymin, Uracil, Adenin und Guanin, im wäßrigen alkalischen Medium (pH 9–12) mit Trimethylphosphat (TMP)<sup>16</sup>. Bei der Phosphorylierung von **1** nach *Yoshikawa*<sup>17</sup> in TMP mit Phosphorylchlorid beobachteten wir beim Lösen von **1** in TMP in der Siedehitze, daß **1** teilweise reagierte. Die Produkte wurden aber nicht näher untersucht, da es Schwierigkeiten bei der chromatographischen Reinigung gab.

Durch Substitution der 3'-Aminogruppe mit einer oder zwei Alkylgruppen bewirkt man, daß die Verbindungen in TMP löslich werden. Durch Reaktion von **4a** mit TMP bei Raumtemperatur erreicht man so eine selektive Alkylierung des Stickstoffs in der 3'-Position des Riboserings zum 3'-Trimethylammonio-3'-desoxyadenosinsalz **13**. Die anfangs klare Lösung von **4a** in TMP wurde nach 1–2 Tagen trübe, und nach mehreren Tagen fällt **13** in guter Ausbeute aus. Methylierungsreaktionen am Adenin wurden

unter diesen Bedingungen nicht beobachtet. Die freie Base, das 3'-Trimethylammoniohydroxidderivat, ist durch Austausch des Dimethylphosphat-Anions über Dowex-Anionen-Austauscher (OH-Form) erhältlich. Durch Neutralisation der stark basischen Verbindung mit verdünnter Salzsäure erhält man **14**.

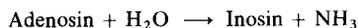


Da quartäre Ammonium-Derivate von Nucleosiden biologisch und pharmakologisch interessante Eigenschaften versprechen<sup>15)</sup>, untersuchen wir z. Zt., ob die beschriebene Methode auch auf andere Aminonucleoside anwendbar ist.

Die Konstitution der neu dargestellten Verbindungen wurde aus massenspektrometrischen<sup>18)</sup> und <sup>1</sup>H- sowie <sup>13</sup>C-NMR-spektroskopischen Untersuchungen abgeleitet. Die <sup>1</sup>H-NMR-Daten sind im Experimentellen Teil wiedergegeben. Besonders auffällig ist dabei, daß (im Gegensatz zu den normalerweise bei Nucleosiden anzutreffenden Verhältnissen) die Spektren des Riboseteils der 3'-N-mono- und -dialkylierten Verbindungen meistens schon bei 100 MHz Meßfrequenz sehr schön aufgefächert sind und daher eine vollständige Analyse erlauben. Die aussagekräftigste Methode zur Konstitutionsermittlung ist für die vorliegenden Aminonucleoside jedoch die <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie. Sämtliche erhaltenen Daten sind in Tab. 1 aufgeführt. Daraus ist ersichtlich, daß die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffatome des Basenteils durch die Modifikation der Ribose-Substituenten nicht nennenswert beeinflußt werden. Verschiebungsänderungen, vor allem von C-2, C-6 und C-8, wurden jedoch bei der Messung von stärker sauren Lösungen beobachtet, da dann der Adenyl-Substituent protoniert vorliegt. Im Ribose-Teil des Spektrums geben vor allem die Verschiebungen der stickstoffgebundenen C-Atome Auskunft über Ort und Ausmaß der N-Alkylierung: z. B. führt Monomethylierung der 3'-NH-Gruppe zu einer Entschirmung von C-3' von ca. 8 ppm, Dimethylierung zu einer solchen von ca. 13 ppm.

Erst die <sup>13</sup>C-Spektren führten uns zur Konstitution des Oxazolidin-Derivates **4g**. Bei der Reaktion war ursprünglich ein 3'-N-Benzyl-N-(hydroxymethyl)amino-Derivat erwartet worden. Das Spektrum von **4g** zeigte jedoch im Vergleich zu **4e** eine deutliche Abschirmung von C-1', die mit einem hinzugekommenen  $\gamma$ -ständigen Kohlenstoff erklärt werden kann, und eine große Entschirmung von C-2', die für einen neuen  $\beta$ -Substituenten spricht. Beides deutet auf die Bildung des fünfgliedrigen Ringes zwischen 3'-N und 2'-O. Die ungewöhnliche Lage der CH<sub>2</sub>-Absorption bei  $\delta = 85.8$  beweist das Vorhandensein einer  $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{O}-$ -Einheit. Elementaranalyse, Massenspektrum und <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum erhärten die abgeleitete Konstitution.

Inwieweit die Einführung von Methylgruppen in die 3'-NH<sub>2</sub>-Position von **1** die biologische Aktivität beeinflußt, wurde in einem orientierenden Versuch mit dem Enzym Adenosin-Desaminase in der Reihe Adenosin, **1**, **3a**, **4a** und **13** untersucht. Die Adenosin-Desaminase hydrolysiert im Stoffwechsel Adenosinderivate zu Inosinverbindungen nach folgender Bruttogleichung:



Tab. 1. <sup>13</sup>C-Chemische Verschiebungen einiger Nucleoside<sup>a)</sup>

Ver- bin- dung	Lösungs- mittel	C-2	C-4	C-5	C-6	C-8	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	sonstige Signale
<b>1</b>	D <sub>2</sub> O <sup>b)</sup>	153.4 d	149.1 s	119.7 s	156.2 s	141.3 d	90.4 d	73.3 d	52.7 d	83.2 d	62.2 t	Methyl: 33.6 q
<b>3a</b>	D <sub>2</sub> O	153.7 d	149.3 s	119.8 s	156.5 s	141.3 d	90.7 d	73.2 d	60.6 d	82.6 d	62.5 t	Ethyl: 43.4 t (C-1), 11.5 q (C-2)
<b>3b</b>	D <sub>2</sub> O <sup>c)</sup>	152.4 d	148.9 s	119.4 s	155.5 s	141.2 d	90.3 d	72.7 d	58.0 d	81.6 d	61.7 t	Propyl: 50.0 (C-1), 20.7 (C-2), 11.5 (C-3)
<b>3c</b>	D <sub>2</sub> O	153.8	149.4	119.9	156.5	141.4	90.7	73.1	58.8	82.2	62.2	Isopropyl: 48.1 (C-1), 23.3 und 22.2 (C-2 und C-2')
<b>3d</b>	D <sub>2</sub> O	153.2	148.7	119.2	155.9	140.7	91.1	74.0	56.8	85.2	62.0	Cyclobutyl: 52.7 d (C-1), 27.5 t (C-2), 15.5 t (C-3)
<b>3f</b>	D <sub>2</sub> O	145.7 d	149.1 s	119.8 s	151.1 s	144.4 d	91.5 d	73.3 d	56.5 d	82.2 d	61.4 t	Cyclohexyl: 58.5 d* (C-1), 30.4 t und 30.3 t (C-2, 6), 23.3 t (C-3), 25.7 t (C-4)
<b>3g</b>	D <sub>2</sub> O	153.9 d	149.5 s	120.0 s	156.7 s	141.7 d	91.0 d	73.2 d	55.5 d*	82.3 d	61.9 t	Benzyl: 51.5 t (CH <sub>2</sub> ), 130.9 s (C-1), 130.9 d* (C-2), 130.1 d* (C-3), 130.9 d (C-4)
<b>3h</b>	D <sub>2</sub> O <sup>c)</sup>	148.0 d	148.7 s	119.7 s	152.6 s	143.1 d	91.1 d	72.7 d	57.6 d	81.8 d	61.3 t	Nitrobenzyl: 50.2 (CH <sub>2</sub> ), 146.3 (C-1), 128.8 (C-2), 123.2 (C-3), - (C-4)
<b>3i</b>	[D <sub>6</sub> ]DMSO <sup>d)</sup>	152.3	149.2	119.0	155.9	139.3	89.4	72.2	58.5	83.8	61.2	Phenethyl: 50.2 (CH <sub>2</sub> N), 37.2 (CH <sub>2</sub> Ph), 141.1 (C-1), 129.7 und 129.4 (C-2 und C-3), 127.2 (C-4)
<b>3j</b>	CD <sub>3</sub> OD	153.6	149.8	120.8	157.4	141.4	92.5	74.3	60.4	86.1	63.1	Methyl: 43.6
<b>4a</b>	CD <sub>3</sub> OD	153.6 d	149.9 s	120.8 s	157.5 s	141.5 d	92.7 d	76.8 d	65.9 d	83.4 d	64.4 t	Ethyl: 48.0 und 46.9 (C-1), 9.2 und 9.0 (C-2)
<b>4b</b>	D <sub>2</sub> O	145.7	149.2	120.1	151.2	144.6	91.6	74.0	62.4*	81.8	62.0*	Octyl: 51.8 t (C-1), 29.5 t, 29.3 t, 27.8 t und 27.3 t (C-2, 3, 4, 5), 31.8 t (C-6), 22.7 t (C-7), 14.1 q (C-8)
<b>4d</b>	CDCl <sub>3</sub>	152.4 d	148.3 s	121.2 s	156.1 s	140.8 d	95.0 d	72.5 d	63.9 d	81.9 d	64.8 t	Benzyl: 60.7 t* (CH <sub>2</sub> ), 140.1 s (C-1), 130.1 d und 129.4 d (C-2 und C-3), 128.3 d (C-4)
<b>4e</b>	CD <sub>3</sub> OD	153.5 d	149.7 s	120.7 s	157.4 s	141.6 d	93.0 d	76.7 d	64.6 d	83.1 d	64.3 t*	Methyl: 39.5 q
<b>4f</b>	D <sub>2</sub> O <sup>c)</sup>	148.0 d	148.8 s	119.6 s	152.4 s	143.0 d	91.2 d	73.9 d	61.5 d	81.1 d	62.1 t	Benzyl: 56.4 t (CH <sub>2</sub> ), 129.4 s (C-1), 131.7 d und 130.2 (C-2 und C-3), 131.2 d (C-4); Ethyl: 47.0 t (CH <sub>2</sub> ), 8.5 q (CH <sub>3</sub> )

Tab. 1. (Fortsetzung)

Ver- bin- dung	Lösungs- mittel	C-2	C-4	C-5	C-6	C-8	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	sonstige Signale
<b>4g</b>	[D <sub>6</sub> ]DMSO <sup>a)</sup>	152.6 d	148.9 s	118.9 s	156.0 s	139.6 d	88.6 d	81.2 d*	68.5 d	83.6 d*	61.9 t	Benzyl: 58.1 t (CH <sub>2</sub> ), 138.7 s (C-1), 128.4 d und 128.2 d (C-2 und C-3), 127.1 d (C-4); NCH <sub>2</sub> O: 85.8 t Boc: 155.7* (C=O), 80.3 (C-O), 28.2 (CH <sub>3</sub> ); Tosyl: 132.3 (C-1), 128.0 (C-2), 129.8 (C-3), 145.0 (C-4), 21.5 (CH <sub>3</sub> )
<b>6</b>	CDCl <sub>3</sub>	152.6	148.5	119.3	155.6*	138.7	90.8	73.9	52.3	81.1	69.4	
<b>11a</b>	D <sub>2</sub> O	149.6	149.4	120.5	153.8	143.8	91.9	73.1	54.0	78.0	49.5*	Octyl: 49.4* (C-1), 29.4, 29.4, 26.8 und 26.3 (C-2, 3, 4, 5), 32.2 (C-6), 23.2 (C-7), 14.7 (C-8)
<b>11b</b>	D <sub>2</sub> O	153.7	149.3	120.3	156.6	141.8	91.9	74.4	55.1	79.8	49.3	Benzyl: 52.7 (CH <sub>2</sub> ), 131.5 (C-1), 130.8* (C-2), 130.2* (C-3), 130.8 (C-4)
<b>12a</b>	CD <sub>3</sub> OD	153.7 d	150.5 s	120.7 s	157.2 s	141.3 d	92.8 d	73.8 d	60.3 d	83.8 d	52.0 t*	Benzyl: 54.6 t* (CH <sub>2</sub> ), 140.7 s (C-1), 129.3 d (C-2, 3), 128.0 d (C-4) Isopropyl: 48.4 d (C-1), 23.7 q und 22.8 q (C-2 und C-2')
<b>12b</b>	CD <sub>3</sub> OD	153.7	150.0	120.7	157.2	141.1	92.5	73.5	62.0	83.5	52.1*	Benzyl: 54.6* und 52.9* (CH <sub>2</sub> ), 140.7 (C-1), 129.3 (C-2, 3), 128.1 (C-4)
<b>13</b>	CD <sub>3</sub> OD	153.8 d	150.0 s	120.9 s	157.6 s	141.5 d	91.4 d	72.7 d*	75.5 d*	80.5 d	63.1 t	Trimethylammonium: 54.5 q; Dimethylphosphat: 55.2 q ( <sup>2</sup> J <sub>PC</sub> = 6.0 Hz) und 53.0 q ( <sup>2</sup> J <sub>PC</sub> = 6.2 Hz)

<sup>a)</sup> Aufnahme-Frequenz 25.2 oder 20.0 MHz, Multiplizitäten in den off-resonance-entkoppelten Spektren sind, sofern bestimmt, hinter den chemischen Verschiebungen angegeben. Mit \* versehene Zuordnungen sind vertauschbar. Standard: externes TMS für D<sub>2</sub>O-Lösungen, internes TMS für die anderen Lösungsmittel.

<sup>b)</sup> Lösungen in D<sub>2</sub>O waren im allgemeinen schwach sauer, so daß aliphatische Aminogruppen protoniert vorliegen. Die Lösungen von **3f**, **3h**, **4b**, **4f** und **11a** waren stärker sauer, so daß auch Protonierung am Purin-Teil der Moleküle erfolgte. Dies ist aus der Entschirmung von C-8 und der Abschirmung von C-2 und C-6 zu erkennen.

<sup>c)</sup> Standard: Dioxan,  $\delta = 67.4$ .

<sup>d)</sup> Standard: [D<sub>6</sub>]DMSO,  $\delta = 39.5$ .

Die Bildung von Inosin kann spektralphotometrisch an der Abnahme der Extinktion bei 265 nm verfolgt werden. Man erhält für die fünf Substrate Zeit-Umsatz-Kurven, deren Steigung der jeweiligen Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  (1 OD/t [min]) der Hydrolyse entspricht.

Substrat	Adenosin	1	3a	4a	13
t [min]	4	7	78	≈ 600	∞

1, 3a und 4a sind folglich Substrate für die Desaminase-Reaktion. Die Adenosin-Desaminase hydrolysiert das 3'-Dimethylamino-3'-desoxyadenosin 4a etwa 150mal langsamer als ihr Substrat Adenosin.

Frau Dr. M.-R. Kula danken wir für das Interesse und die Förderung dieser Arbeit. Unser Dank gilt auch Herrn K. Heidebrecht für ausgezeichnete technische Assistenz. Herrn Dr. Vogelmann und Herrn Pape, GBF, Abt. Biotechnologie, danken wir für die Bereitstellung von 1.

## Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben, Messung der Spektren, Schmelzpunkte und DC-Untersuchungen siehe bei Lit.<sup>1)</sup> Die Ausbeuten wurden nicht optimiert. Aus unbekanntem Gründen wurden, wie in Lit.<sup>1)</sup>, bei den Elementaranalysen Stickstoffwerte gefunden, die um bis zu 3% von den berechneten Werten abwichen.

Allgemeine Vorschrift für die Darstellung der 3'-N-Alkyl-, 3'-N-Cycloalkyl-, 3'-N-Alkylaryl- sowie der 3'-N,N-Dialkyl-Derivate: 266 mg (1 mmol) 1 wurden in 2 ml Acetatpuffer (2.5 g Natriumacetat · 3H<sub>2</sub>O, 8.4 ml Eisessig in 25 ml H<sub>2</sub>O) gelöst und mit 8 ml Wasser versetzt. Man kühlte auf 0°C ab und gab die Aldehyde bzw. Ketone im Überschuß hinzu. Bei den unlöslichen, aromatischen Aldehyden bzw. längerkettigen aliphatischen Aldehyden gab man zur obigen Lösung 10 ml Ethanol. Im Verlauf von 30 min wurde in kleinen Portionen Natriumborhydrid (200 mg) zugegeben. Die Reaktion wurde in jedem Fall dünnschichtchromatographisch (Laufmittel H<sup>1)</sup>, Kieselgel) verfolgt, und je nach Umsatz von 1 wurden erneut Aldehyd bzw. Keton und Natriumborhydrid zugegeben. Nachdem alles 1 umgesetzt war bzw. keine Änderung des Edukt/Produkt-Verhältnisses mehr beobachtet wurde, engte man am Rotavapor ein und nahm den Rückstand in Wasser auf bzw. in Ether, wenn mit wasserunlöslichen Aldehyden bzw. Ketonen umgesetzt wurde. Die wäßrige Lösung wurde auf eine Dowex-Anionenaustauscher-Säule (OH-Form, 200–400 mesh, 40 × 2.5 cm) gegeben und zunächst mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde mit Wasser/Methanol-Mischungen in der folgenden Reihenfolge eluiert: 9 : 1, 8 : 2, 6 : 4, 1 : 1, 4 : 6, 3 : 7. Nach Elution der N-Alkyl-derivate und dünnschichtchromatographischer Reinheitskontrolle wurde eingengt und aus Wasser lyophilisiert bzw. aus Methanol kristallisiert. Die Ausbeuten lagen zwischen 50 und 95%.

3'-Propylamino-3'-desoxyadenosin (3c): <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 8.32 und 8.16 (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.16 (d, J = 4 Hz, 1'-H), 5.10 (dd, J = 4 Hz und 6 Hz, 2'-H), ca. 4.7 (m, teilweise unter HOD-Signal verborgen, 4'-H), 4.20 (t, J = 6 Hz, 3'-H), 4.1–3.8 (m, 5'-H), 3.20 (ca. t, J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>N), 1.84 (ca. sext, J ca. 7 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.06 (t, J = 7 Hz, CH<sub>3</sub>). – MS (m/e): 309 (M<sup>+</sup> + 1). – R<sub>F</sub>: 0.30 (E), 0.76 (F). – Schmp. 162–163°C.

C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (308.3) Ber. C 50.64 H 6.54 N 27.26 Gef. C 50.62 H 6.71 N 27.11

3'-Isopropylamino-3'-desoxyadenosin (3d): <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ = 8.42 und 8.19 (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.03 (d, J = 3 Hz, 1'-H), 4.57 (dd, J = 3 Hz und 6 Hz, 2'-H), 4.2–3.7 (m, 3', 4', 5'-H),

2.91 (sept,  $J = 6$  Hz, iPr-Methin-H), 1.10 und 1.09 (je 1 d,  $J = 6$  Hz, iPr-Methyl-H). – MS ( $m/e$ ): 309 ( $M^+ + 1$ ). –  $R_F$ : 0.29 (E), 0.75 (F). – Schmp. 180–181°C.

$C_{13}H_{20}N_6O_3 \cdot H_2O$  (326.3) Ber. C 47.85 H 6.79 N 25.75 Gef. C 47.83 H 6.25 N 27.48

**3'-Octylamino-3'-desoxyadenosin (3e)**:  $^1H$ -NMR ( $[D_6]$ DMSO):  $\delta = 8.39$  und  $8.15$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 7.28 (s, 6-NH<sub>2</sub>), 5.95 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1'-H), 5.80 (br, 2'-OH, gegen D austauschbar), 5.21 (ca. t,  $J = 5.3 \pm 0.7$  Hz, 5'-OH, gegen D austauschbar), 4.54 (br, 2'-H; nach H/D-Austausch: dd,  $J = 3.3$  Hz und  $5.1$  Hz), 3.95–3.50 (m, 4'- und 5'-H), 3.32 (ca. t,  $J = 6$  Hz, 3'-H), ca. 2.6 (teilweise unter Lösungsmittel-Signal verborgen, NCH<sub>2</sub>), 1.8 (br, NH, gegen D austauschbar), 1.26 (br, [CH<sub>2</sub>]<sub>6</sub>), 0.86 (ca. t,  $J =$  ca. 6 Hz, CH<sub>3</sub>). – MS ( $m/e$ ): 379 ( $M^+ + 1$ ). –  $R_F$ : 0.41 (E), 0.81 (F). – Schmp. 168–169°C.

$C_{18}H_{30}N_6O_3$  (378.5) Ber. C 57.12 H 7.98 N 22.20 Gef. C 57.12 H 7.99 N 22.23

**3'-Cyclobutylamino-3'-desoxyadenosin (3f)**:  $^1H$ -NMR (Hydrochlorid in D<sub>2</sub>O):  $\delta = 8.83$  und  $8.78$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.55 (d,  $J = 3$  Hz, 1'-H), 5.45 (dd,  $J = 6$  Hz und  $3$  Hz, 2'-H), 5.0–4.2 (m, 3'-, 4'-, 5'- und Cyclobutyl-1-H), 2.65 (ca. q,  $J =$  ca. 7 Hz, Cyclobutyl-2- und 4-H), ca. 2.2 (m, Cyclobutyl-3-H). –  $R_F$ : 0.31 (E), 0.72 (F). – Schmp. 161–162°C.

$C_{14}H_{20}N_6O_3$  (320.4) Ber. C 52.49 H 6.29 N 26.24 Gef. C 51.96 H 6.50 N 25.76

**3'-Cyclohexylamino-3'-desoxyadenosin (3g)**:  $^1H$ -NMR (D<sub>2</sub>O):  $\delta = 8.30$  und  $8.18$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.14 (d,  $J = 4$  Hz, 1'-H), 5.10 (dd,  $J = 6$  Hz und  $4$  Hz, 2'-H), 4.8–4.4 (m, teilweise unter HOD-Signal verborgen, 3'-H und 4'-H), 5.2–4.8 (AB-Teil von ABX-Spektrum, 5'-H,  $\delta = 4.00$  und  $3.86$ ,  $^2J = (-)12.5$  Hz,  $^3J = 1.7$  Hz und  $4.3$  Hz), ca. 3.25 (br, Cyclohexyl-1-H), 2.2–1.2 (m, restliche Cyclohexyl-H). – MS ( $m/e$ ): 349 ( $M^+ + 1$ ). –  $R_F$ : 0.39 (E), 0.78 (F). – Schmp. 216°C.

$C_{16}H_{24}N_6O_3$  (348.4) Ber. C 55.16 H 6.94 N 24.12 Gef. C 55.29 H 6.88 N 24.15

**3'-Benzylamino-3'-desoxyadenosin (3h)**:  $^1H$ -NMR (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta = 8.35$  und  $8.17$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 7.4–7.2 (m, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 6.03 (d,  $J = 3.7$  Hz, 1'-H), 4.63 (dd,  $J = 3.7$  Hz und  $5.6$  Hz, 2'-H), 3.83 (s, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 3.52 (t mit verbreiteter Mittelresonanz,  $J_{2',3'} + J_{3',4'} = 11.7$  Hz, 3'-H); Ergebnisse einer iterativen Analyse für die Resonanzen von 4'- und 5'-H:  $\delta_{4'-H} = 4.09$ ,  $\delta_{5'-H(a)} = 3.92$ ,  $\delta_{5'-H(b)} = 3.72$ ,  $J_{4',5'(a)} = 2.4$  Hz,  $J_{4',5'(b)} = 3.1$  Hz,  $J_{5'(a)5'(b)} = (-)12.4$  Hz. – MS ( $m/e$ ): 356 ( $M^+$ ). –  $R_F$ : 0.39 (E), 0.78 (F). – Schmp. 171°C.

$C_{17}H_{20}N_6O_3 \cdot 0.5 H_2O$  (365.4) Ber. C 55.88 H 5.79 N 23.00 Gef. C 55.29 H 5.33 N 23.02

**3'-(4-Nitrobenzylamino)-3'-desoxyadenosin (3i)**:  $^1H$ -NMR ( $[D_6]$ DMSO):  $\delta = 8.37$  und  $8.14$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 8.19 und 7.65 (AA'BB'-Spektrum eines *p*-disubst. Aromaten, aromat. Nitrobenzyl-H), 7.28 (s, 6-NH<sub>2</sub>), 5.99 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1'-H), 5.91 (d,  $J = 5.0$  Hz, mit D<sub>2</sub>O austauschbar, 2'-OH), 5.21 (t,  $J =$  ca. 5 Hz, mit D<sub>2</sub>O austauschbar, 5'-OH), 4.58 (ca. q, nach D<sub>2</sub>O-Austausch schlecht aufgelöstes dd, 2'-H), 3.91 (br s, CH<sub>2</sub>N), 4.0–3.4 (m, 4'- und 5'-H), ca. 2.4 (br, teilweise unter Lösungsmittel-Signal verborgen, mit D<sub>2</sub>O austauschbar, 3'-NH). – MS ( $m/e$ ): 401 ( $M^+$ ). –  $R_F$ : 0.39 (E), 0.78 (F).

$C_{17}H_{19}N_7O_5$  (401.4) Ber. C 50.87 H 4.77 N 24.42 Gef. C 50.98 H 5.30 N 24.38

**3'-(2-Phenylethylamino)-3'-desoxyadenosin (3j)**:  $^1H$ -NMR (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta = 8.38$  und  $8.19$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 7.23 („s“, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 6.02 (d,  $J = 4$  Hz, 1'-H), 4.65 (dd,  $J = 6$  Hz und  $4$  Hz, 2'-H), ca. 4.03 (m, 4'-H), ca. 3.95 und ca. 3.75 (m, 5'-H), 3.49 (t,  $J = 6$  Hz, 3'-H), 2.87 (m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>). – MS ( $m/e$ ): 371 ( $M^+ + 1$ ). –  $R_F$ : 0.37 (E), 0.78 (F). – Schmp. 188–189°C.

$C_{18}H_{22}N_6O_3$  (370.4) Ber. C 58.36 H 5.99 N 22.69 Gef. C 58.09 H 6.29 N 22.79

**3'-Dimethylamino-3'-desoxyadenosin (4a)**:  $^1H$ -NMR (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta = 8.43$  und  $8.19$  (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.06 (d,  $J = 4$  Hz, 1'-H), 4.73 (dd,  $J = 6$  Hz und  $4$  Hz, 2'-H), 4.43 (ca. dt,  $J = 6$  Hz und

2–3 Hz, 4'-H), 3.99 und 3.74 (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)13$  Hz,  $^3J = 2$  Hz bzw. 3 Hz, 5'-H), 3.36 (t,  $J = 6$  Hz, 3'-H), 2.50 (s, CH<sub>3</sub>). – MS (*m/e*): 295 (M<sup>+</sup> + 1). – R<sub>F</sub>: 0.12 (E), 0.64 (F). – Schmp. 155–156°C.

C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (294.3) Ber. C 48.97 H 6.16 N 28.55 Gef. C 48.41 H 6.48 N 28.18

3'-Diethylamino-3'-desoxyadenosin (**4b**): <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 8.61 und 8.54 (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.39 (d,  $J = 2$  Hz, 1'-H), 5.42 (dd,  $J = 6$  Hz und 2 Hz, 2'-H), 4.9–4.6 (m, teilweise von HOD-Signal verdeckt, 3'-H und 4'-H), 4.07 und 3.87 (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)13$  Hz,  $^3J = 2$  Hz bzw. 3 Hz, 5'-H), 3.51 (q,  $J = 7$  Hz, CH<sub>2</sub>), 1.41 (t,  $J = 7$  Hz, CH<sub>3</sub>). – MS (*m/e*): 323 (M<sup>+</sup> + 1). – R<sub>F</sub>: 0.34 (E), 0.74 (F). – Schmp. >190°C (Sublimation).

C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (322.4) Ber. C 52.16 H 6.88 N 26.07 Gef. C 52.86 H 7.41 N 26.33

3'-Dipropylamino-3'-desoxyadenosin (**4c**): <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO): δ = 8.39 und 8.13 (je 1 s, 8-H und 2-H), 7.29 (br s, mit D<sub>2</sub>O austauschbar, 6-NH<sub>2</sub>), 5.90 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1'-H), ≈5.44 (br, 2'- und 5'-OH), 4.61 (dd,  $J = 4.0$  und 6.4 Hz, 2'-H), 4.17 (m, 4'-H), 3.9–3.4 (m, 3'- und 5'-H), 2.70 (t,  $J = 7$  Hz, Propyl-1-H), 1.41 (sext,  $J = \text{ca. } 7$  Hz, Propyl-2-H), 0.85 (t,  $J = \text{ca. } 7$  Hz, Propyl-3-H). – R<sub>F</sub>: 0.45 (E), 0.78 (F). – Schmp. 196–198°C.

C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (350.4) Ber. C 54.84 H 7.47 Gef. C 55.21 H 7.18

3'-Diocetylamino-3'-desoxyadenosin (**4d**): <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ = 8.40 und 8.19 (je 1 s, 8-H und 2-H), 5.99 (d,  $J = 4$  Hz, 1'-H), 4.68 (dd,  $J = 6$  Hz und 4 Hz, 2'-H), 4.44 (ca. dt, schlecht aufgelöst, 4'-H), 3.96 und 3.70 (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)13$  Hz,  $^3J = 2$  Hz bzw. 3 Hz, 5'-H), 3.78 (t,  $J = 6$  Hz, 3'-H), 2.78 (ca. t,  $J = 7$  Hz, NCH<sub>2</sub>), 1.51 (br t, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.33 (br s, restliche CH<sub>2</sub>), 0.90 (t,  $J = 6$  Hz, CH<sub>3</sub>). – MS (*m/e*): 491 (M<sup>+</sup> + 1). – R<sub>F</sub>: 0.62 (E), 0.82 (F). – Schmp. 129–130°C.

C<sub>26</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (490.7) Ber. C 63.64 H 9.45 N 17.13 Gef. C 63.82 H 9.43 N 17.21

3'-(*N*-Benzyl-*N*-methylamino)-3'-desoxyadenosin (**4e**) und Oxazolidin **4g**: 480 mg (1.35 mmol) **3h** wurden in 2 ml Acetatpuffer, 4 ml Wasser und 4 ml Ethanol gelöst. In 3 Stufen wurden je 100 µl 35proz. Formaldehydlösung zugegeben und in mehreren Portionen insgesamt 350 mg Natriumborhydrid. Nach kurzer Zeit erfolgte Trübung und der ausgefallene Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet. Man erhielt etwa 350 mg Oxazolidinderivat **4g**, das aus Methanol umkristallisiert wurde. Beim Versetzen einer DMSO-Lösung von **4g** mit Methanol nach kurzer Zeit schöne Kristalle.

Oxazolidinderivat (**4g**): <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO): δ = 8.34 und 8.16 (je 1 s, 8-H und 2-H), 6.04 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1'-H), 5.01 (dd,  $J = 2.8$  Hz und ca. 6.5 Hz, 2'-H), 4.93 (t,  $J = 5.3$  Hz, OH), 4.64 und 4.59 (AB-Spektrum,  $^2J = 7.1$  Hz, OCH<sub>2</sub>N), 3.81 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>), 4.10–3.85 und 3.7–3.4 (je 1 m von zwei Protonen, 3'-, 4'- und 5'-H). – MS (*m/e*): 368 (M<sup>+</sup>). – R<sub>F</sub>: 0.43 (E), 0.78 (F). – Schmp. 217–218°C.

C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (368.5) Ber. C 58.69 H 5.47 N 22.81 Gef. C 58.59 H 5.61 N 22.84

Das obige Filtrat mit **4e** wurde eingengt, in wenig Wasser aufgenommen und auf einer Dowex-Anionenaustauscher-Säule (OH-Form, 200–400 mesh, 25 × 2.5 cm) durch Elution mit Wasser und Methanol/Wasser (2:8) gereinigt. Nach Einengen der nucleosidhaltigen Fraktion und Lyophilisieren aus Wasser erhielt man etwa 130 mg **4e**: <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ = 8.38 und 8.19 (je 1 s, 8-H und 2-H), 7.4–7.2 (m, Phenyl), 6.09 (d,  $J = 4$  Hz, 1'-H), 4.74 (dd,  $J = 6$  Hz und 4 Hz, 2'-H), 4.52 (m, 4'-H), 3.99 und 3.71 (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)13$  Hz,  $^3J = 2$  Hz bzw. 3 Hz, 5'-H), 3.90 (s, NCH<sub>2</sub>), 3.65 (t,  $J = 6$  Hz, 3'-H), 2.48 (s, CH<sub>3</sub>). – MS (*m/e*): 370 (M<sup>+</sup>). – R<sub>F</sub>: 0.43 (E), 0.78 (F). – Schmp. 166–168°C.

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (370.4) Ber. C 58.36 H 5.98 N 22.68 Gef. C 57.56 H 5.76 N 22.69

Durch Änderung der Reaktionsbedingungen konnte die Ausbeute an **4e** erhöht werden. Zugabe von Dimethylformamid nach dem Ausfällen des Oxazolidins **4g** und kurzzeitiges Erwärmen ergab eine klare Lösung, und nach erneutem Abkühlen und Versetzen mit Formaldehyd und Natriumborhydrid erhielt man etwa 65% an **4e**.

*3'-Methylamino-3'-desoxyadenosin (3a)*: 130 mg (0.35 mmol) **4e** in 10 ml 90proz. Essigsäure wurden mit 2 Spatelspitzen Palladium/Aktivkohle versetzt und 3 h mit Wasserstoff hydriert. Nach Filtrieren, Einengen und Lyophilisieren erhielt man 95 mg (97%) **3a**, das sich aus Wasser kristallisieren läßt. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 8.33$  und  $8.17$  (je 1 s, 8-H und 2-H),  $6.09$  (d,  $J = 4$  Hz, 1'-H), ca.  $4.8$  (unter HOD-Signal verborgen, 2'-H),  $4.3-3.7$  (m, 3', 4'- und 5'-H),  $2.43$  (s,  $\text{CH}_3$ ). — MS ( $m/e$ ):  $281$  ( $\text{M}^+ + 1$ ). —  $R_F$ :  $0.63$  (F). — Schmp.  $> 240^\circ\text{C}$  (Sublimation).

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_3$  (280.3) Ber. C 47.14 H 5.75 N 29.98 Gef. C 47.05 H 6.12 N 29.84

*3'-(N-Benzyl-N-ethylamino)-3'-desoxyadenosin (4f) und 3'-Ethylamino-3'-desoxyadenosin (3b)*: 190 mg (0.53 mmol) **3h** wurden nach der obigen Vorschrift in Acetattuffer mit einem Überschuß Acetaldehyd und Natriumborhydrid umgesetzt. Nach der üblichen Reinigung an Dowex-Anionenaustauscher wurde die nucleosidhaltige Fraktion eingengt und aus Methanol kristallisiert. Ausb. 185 mg (90%) **4f**.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 8.33$  und  $8.15$  (je 1 s, 8-H und 2-H),  $7.4-7.2$  (m, Phenyl),  $6.02$  (d,  $J = 4.5$  Hz, 1'-H),  $4.67$  (dd,  $J = 4.5$  und  $6.5$  Hz, 2'-H),  $4.46$  (dt,  $J = 3.0$  Hz und  $5.5$  Hz, 4'-H),  $3.98$  (s,  $\text{CH}_2$ ),  $3.77$  (t,  $J = 6.5$  Hz, 3'-H),  $3.93$  und  $3.67$  (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)12.5$  Hz,  $^3J = 2$  Hz bzw.  $3$  Hz, 5'-H),  $2.85$  (q,  $J = 7$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ),  $1.09$  (t,  $J = 7$  Hz,  $\text{CH}_3$ ). — MS ( $m/e$ ):  $384$  ( $\text{M}^+$ ). —  $R_F$ :  $0.45$  (E),  $0.81$  (F). — Schmp.  $188^\circ\text{C}$ .

$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_3$  (384.5) Ber. C 59.36 H 6.29 N 21.86 Gef. C 59.45 H 6.46 N 22.01

Die Substanz wurde wie oben hydriert und an Dowex-Anionenaustauscher gereinigt. Die nucleosidhaltige Fraktion wurde eingengt und lyophilisiert. Ausb. 122 mg (86%) **3b**. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 8.35$  und  $8.18$  (je 1 s, 8-H und 2-H),  $6.18$  (d,  $J = 4.0$  Hz, 1'-H),  $5.15$  (dd,  $J = 4.0$  Hz und  $6.4$  Hz, 2'-H),  $4.68$  (m, 4'-H),  $4.28$  (t,  $J = 6.4$  Hz, 3'-H),  $4.09$  und  $3.95$  (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)13.1$  Hz,  $^3J = 2.8$  Hz bzw.  $3.5$  Hz),  $3.37$  (q,  $J = 7.3$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ),  $1.47$  (t,  $J = 7.3$  Hz,  $\text{CH}_3$ ). — MS ( $m/e$ ):  $295$  ( $\text{M}^+ + 1$ ). —  $R_F$ :  $0.17$  (E),  $0.70$  (F). — Schmp.  $178-180^\circ\text{C}$ .

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_3$  (294.3) Ber. C 48.97 H 6.16 N 28.55 Gef. C 48.98 H 6.37 N 27.57

*3'-tert-Butyloxycarbonylamino-5'-O-tosyl-3'-desoxyadenosin (6)*: 1330 mg (5 mmol) **1** wurden nach der üblichen Vorschrift mit Azidoameisensäure-tert-butylester zum 3'-tert-Butyloxycarbonylamino-3'-desoxyadenosin umgesetzt<sup>1)</sup>. Die Substanz wurde in 30 ml wasserfreiem Pyridin gelöst, auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt und mit 2 g (11.1 mmol) *p*-Toluolsulfochlorid versetzt. Es erfolgte Gelbfärbung, man ließ 30 min bei  $0^\circ\text{C}$  und anschließend noch etwa 18 h im Kühlschrank stehen. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend in 100 ml 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben, die mit 50 ml Chloroform unterschichtet war. Die wäßrige Lösung wurde nach Abtrennen der Chloroformphase noch zweimal mit je 20 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformextrakte wurden mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Die Rohausbeute lag bei etwa 85%. Feinreinigung erfolgte durch SC an Kieselgel 60 (150 g) mit Dichlormethan/Methanol (9.5:0.5) als Laufmittel. Ausb. 1.91 g (74%) **6**. — UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}_1} = 260$ ,  $\lambda_{\text{max}_2} = 232$  nm. — IR (KBr):  $1176$   $\text{cm}^{-1}$  (Tosylesterbande). —  $R_F$ :  $0.52$  (E),  $0.80$  (F).

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}$  (520.6) Ber. S 6.15 Gef. S 5.99

*3',5'-Diamino-3',5'-didesoxyadenosin (9)*: Zu 790 mg (1.5 mmol) **6** wurde in ein Bombenrohr (aus Glas) bei ca.  $-50^\circ\text{C}$  trockenes Ammoniak (über festes KOH geleitet) unter Ausschluß von Feuchtigkeit hineinkondensiert. Man beließ das zugeschmolzene Rohr 7 Tage bei  $37^\circ\text{C}$ . Nach vorsichtigem Öffnen des abgekühlten Rohres und Verdunsten des Ammoniaks wurde der Rückstand in Methanol gelöst und i. Vak. eingengt. Man erhielt **7**, das nach Ionenaustausch der

wäßrigen Lösung über eine Amberlite-IRC-50-Säule (40 × 2.5 cm), Elution mit 5proz. Ammoniaklösung, Einengen des nucleosidhaltigen Peaks und Lyophilisieren der wäßrigen Lösung in die freie Base **8**, das 5'-Amino-3'-tert-butyloxycarbonylamino-3',5'-didesoxyadenosin, übergeführt wurde. — <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO, Standard: [D<sub>5</sub>]DMSO, δ = 2.50): δ = 8.43 und 8.17 (je 1s, 8-H und 2-H), 7.28 (br s, 6-NH<sub>2</sub>), 6.57 (d, J = 8 Hz, 3'-NH), 5.90 (d, J = 4 Hz, 1'-H), 4.55 (dd, J = 4 Hz und 6 Hz, 2'-H), 4.25 (q, J = 7 Hz, 4'-H), 3.88 (m, 3'-H), 3.6–3.1 (br, 5'-NH<sub>2</sub> und 2'-OH), 2.80 (m, 5'-H), 1.39 (s, tBu). — R<sub>F</sub>: 0.22 (E), 0.77 (F).

C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub> · 0.5H<sub>2</sub>O (374.4) Ber. C 48.12 H 6.19 N 26.18 Gef. C 48.03 H 6.52 N 26.04

**8** wurde 5 min mit 5 ml TFA behandelt, eingedampft und mehrmals mit Methanol zur Trockne eingeengt. Es wurde in Wasser gelöst, die Lösung über eine Dowex-H<sup>+</sup>-Säule (50 W-X 8, 50–100 mesh, 40 × 2.5 cm) gegeben und zunächst mit Wasser gewaschen. Das 3',5'-Diamino-3',5'-didesoxyadenosin (**9**) wurde mit 1 M Ammoniak eluiert, der nucleosidhaltige Peak eingeengt und aus Wasser lyophilisiert. Eine Feinreinigung kann über Dowex-Anionenaustauscher (OH-Form, 200–400 mesh, 30 × 2.5 cm) und Elution mit Wasser erfolgen. Ausb. 260 mg (72%) **9**. — MS (m/e): 265 (M<sup>+</sup>). — R<sub>F</sub>: 0.03 (E), 0.44 (F). — Schmp. > 190°C (Zers.).

C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> (265.3) Ber. C 45.27 H 5.69 N 36.96 Gef. C 44.57 H 5.73 N 36.50

Umsetzung von **6** mit Benzylamin bzw. Octylamin zu **11b** und **11a**: 300 mg (0.58 mmol) **6** wurden mit 3 ml frisch destilliertem Benzylamin bzw. 3 ml Octylamin 5 Tage bei Raumtemp. stehen gelassen. Danach wurde das Amin i. Ölpumpenvak. abgezogen, der Rückstand **10b** bzw. **10a** in wenig Wasser gelöst, mit 1 N NaOH stark alkalisch gemacht und anschließend die freigesetzten Basen mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroform-Phase wurde eingeengt und der trockene Rückstand 5 min mit 3 ml frisch destillierter TFA unter Ausschluß von Feuchtigkeit behandelt, zur Trockne eingeengt und mehrmals mit Methanol abgezogen. Der Rückstand wurde in 5 ml Wasser gelöst und auf eine Dowex-Anionenaustauscher-Säule (OH-Form, 200–400 mesh, 25 × 2.5 cm) gegeben, mit Wasser und anschließend mit Methanol/Wasser (2:8 und 4:6) eluiert. Der nucleosidhaltige Hauptpeak wurde eingeengt und **11a** bzw. **11b** aus Wasser lyophilisiert. Ausb. 123 mg (52%) **11a** bzw. 150 mg (73%) **11b**.

3'-Amino-5'-octylamino-3',5'-didesoxyadenosin (**11a**): <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ = 8.25 und 8.20 (je 1s, 8-H und 2-H), 6.00 (d, J = 2.5 Hz, 1'-H), 4.59 (teilweise von HOD-Signal verdeckt, 2'-H), 4.00 (m, 4'-H), 3.56 (ca. t, 3'-H), 2.97 (m, 5'-H), 2.63 (t, J = 7 Hz, 3'-NCH<sub>2</sub>), 1.45 (br m, 3'-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.27 („s“, restliche CH<sub>2</sub>), 0.87 (verzerrtes t, CH<sub>3</sub>). — R<sub>F</sub>: 0.10 (E), 0.69 (F).

C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> · 1.5H<sub>2</sub>O (404.5) Ber. C 53.44 H 8.47 N 24.23 Gef. C 53.55 H 7.65 N 23.47

3'-Amino-5'-benzylamino-3',5'-didesoxyadenosin (**11b**): <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, Standard: CHD<sub>2</sub>OD, δ = 3.30): δ = 8.19 und 8.09 (je 1s, 8-H und 2-H), 7.27 (m, Phenyl), 5.97 (d, J = 2.5 Hz, 1'-H), 4.54 (dd, J = 5.5 Hz und 2.5 Hz, 2'-H), 4.03 (m, 4'-H), 3.79 (s, CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 3.53 (dd, J = 5.5 Hz und 7 Hz, 3'-H), 2.95 (m, 5'-H). — R<sub>F</sub>: 0.17 (E), 0.68 (F). — Schmp. 84–85°C.

C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> · 0.5H<sub>2</sub>O (364.4) Ber. C 56.04 H 6.08 N 26.90 Gef. C 56.29 H 5.72 N 28.68

100 mg (0.28 mmol) **11b** in 10 ml 90proz. Essigsäure wurden mit einer Spatelspitze Palladium/Aktivkohle 5 h bei Raumtemp. hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators, Einengen am Rotavapor und Lyophilisieren der wäßrigen Lösung erhielt man 65 mg (87%) **9**, in allen Eigenschaften übereinstimmend mit dem Produkt aus der Reaktion von **6** mit flüssigem Ammoniak.

5'-Benzylamino-3'-isopropylamino- (**12a**) bzw. 3',5'-Dibenzylamino-3',5'-didesoxyadenosin (**12b**): 200 mg (0.56 mmol) **11b** wurden nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift für die Umsetzung von 1 mit Aldehyden bzw. Ketonen mit einem Überschuß an Aceton bzw. Benzaldehyd und Natrium-

borhydrid umgesetzt. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man 200 mg (89%) **12a** bzw. 225 mg (90%) **12b**.

**12a:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 8.22$  und  $8.14$  (je 1 s, 8-H und 2-H),  $7.26$  (m,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ),  $6.02$  (d,  $J = 2$  Hz, 1'-H),  $4.66$  (dd,  $J = 2$  Hz und  $5.5$  Hz, 2'-H),  $4.02$  (m, 4'-H),  $3.78$  (s, 5'-NCH<sub>2</sub>),  $3.59$  (dd,  $J = 5.5$  Hz und  $8$  Hz, 3'-H),  $3.05 - 2.75$  (m, 5'-H und Isopropyl-Methin-H),  $1.07$  und  $1.06$  (je 1 d,  $J = 6$  Hz, Isopropyl-CH<sub>3</sub>). – MS ( $m/e$ ):  $398$  ( $\text{M}^+ + 1$ ). –  $R_F$ :  $0.30$  (E),  $0.77$  (F).

$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_2$  (397.5) Ber. C 60.43 H 6.85 N 24.67 Gef. C 60.13 H 7.23 N 21.64

**12b:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 8.17$  und  $8.08$  (je 1 s, 8-H und 2-H),  $7.26$  (m,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ),  $6.01$  (d,  $J = 2.5$  Hz, 1'-H),  $4.67$  (dd,  $J = 2.5$  Hz und  $5.5$  Hz, 2'-H),  $4.10$  (m, 4'-H),  $3.83$  und  $3.72$  (AB-Spektrum,  $J = 13$  Hz, 3'-NCH<sub>2</sub>),  $3.72$  (s, 5'-NCH<sub>2</sub>),  $3.44$  (dd,  $J = 8$  Hz und  $5.5$  Hz, 3'-H),  $2.88$  (m, 5'-H) (\* = Zuordnung umkehrbar). –  $R_F$ :  $0.37$  (E),  $0.80$  (F).

$\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_2$  (445.5) Ber. C 64.70 H 6.11 N 22.01 Gef. C 65.63 H 6.48 N 21.97

*Reaktion von 3'-Dimethylamino-3'-desoxyadenosin (4a) mit Trimethylphosphat (TMP):* 180 mg (0.61 mmol) **4a** in 20 ml TMP wurden unter Feuchtigkeitsschluss bei Raumtemp. gerührt. Nach 2 Tagen wurde die anfangs klare Lösung trübe und nach insgesamt 7 Tagen saugte man den feinkristallinen Niederschlag ab, wusch mit TMP sowie Ether und trocknete i. Vak. Man erhielt etwa 195 mg 3'-Trimethylammonio-3'-desoxyadenosin-dimethylphosphat-Salz **13**. Nach Einengen der Mutterlauge i. Hochvak. bei  $30^\circ\text{C}$  gewann man weitere 45 mg **13** und geringe Mengen **4a**. Ausb. 240 mg (90%) **13**. –  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , Standard:  $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$ ):  $\delta = 8.33$  und  $8.17$  (je 1 s, 8-H und 2-H),  $6.21$  (d,  $J = 5$  Hz, 1'-H),  $5.24$  (dd,  $J = 5$  Hz und  $6$  Hz, 2'-H),  $5.00$  (m, 4'-H),  $4.39$  (dd,  $J = 6$  Hz und  $7$  Hz, 3'-H),  $4.12$  und  $3.98$  (AB-Teil eines ABX-Spektrums,  $^2J = (-)13$  Hz,  $^3J = 2$  Hz bzw.  $3$  Hz, 5'-H),  $3.87$  und  $3.64$  (je 1 d,  $^3J_{\text{PH}} = 11.5$  Hz bzw.  $10.5$  Hz, OCH<sub>3</sub>),  $3.53$  (s, NCH<sub>3</sub>). –  $R_F$ :  $0.17$  (F, DC-Cellulose).

$\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_7\text{P}$  (434.4) Ber. C 41.47 H 6.26 N 19.35 Gef. C 41.13 H 6.32 N 18.94

Die wäßrige Lösung von **13** wurde über Dowex-Anionenaustauscher (OH-Form, 200–400 mesh,  $40 \times 1.5$  cm) gegeben und mit Wasser eluiert. Die nucleosidhaltige Fraktion wurde mit 1 N HCl auf pH 7 eingestellt und lyophilisiert zu **14**. Im DC (LM : E) blieb **13** am Start liegen. Bei der Papierelektrophorese (3000 V, 12 mA, 0.05 M TEAB-Puffer, pH 7.5) wanderte **13** zur Kathode und war einheitlich.

*Hydrolyse der 6-Aminogruppe von 1 und dessen 3'-N-Methylderivaten 3a, 4a und 13 durch Adenosin-Desaminase zum 3'-Amino-3'-desoxyinosin und dessen 3'-N-Methylderivaten:*  $3 \cdot 10^{-7}$  mol (4.8 OD) Adenosin **1**, **3a**, **4a** und **13** wurden in 3 ml 0.05 M Phosphatpuffer pH 7.4 mit 0.1 µg (Enzym EC. 3.5.4.4., Fa. Boehringer) bei Raumtemp. inkubiert und die Abnahme der Extinktion bei 265 nm im Zeiss PMQ 2 verfolgt. Unter gleichen Bedingungen wurde die Hydrolyse des Adenosins gemessen. Man erhält für alle Substrate Zeit-Umsatz-Kurven, deren Steigung der jeweiligen Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  der Hydrolyse entspricht (Ergebnisse siehe oben). – Nachweis für die Bildung von 3'-Amino-3'-desoxyinosin aus **1**: UV:  $\lambda_{\text{max}} = 249$  nm.

## Literatur

- Als vorausgegangene Mitteilungen sollen gelten: <sup>1a)</sup> VII. Mittel.: M. Murr und L. Ernst, Chem. Ber. **111**, 2152 (1978). – <sup>1b)</sup> VI. Mittel.: M. Murr und R. Mengel, Chem. Ber. **110**, 3947 (1977). – <sup>1c)</sup> V. Mittel.: M. Murr, Tetrahedron Lett. **1976**, 2127. – <sup>1d)</sup> IV. Mittel.: M. Murr, Tetrahedron Lett. **1976**, 2125. – <sup>1e)</sup> III. Mittel.: M. Murr, M.-R. Kula und L. Ernst, Tetrahedron **31**, 1619 (1975). – <sup>1f)</sup> II. Mittel.: M. Murr, M.-R. Kula, G. Roesler und B. Jastorff, Angew. Chem. **86**, 308 (1974). – <sup>1g)</sup> I. Mittel.: M. Murr und M.-R. Kula, Tetrahedron Lett. **1974**, 23.
- T. Y. Shen, Angew. Chem. **82**, 730 (1970); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **9**, 678 (1970).

- <sup>3)</sup> S. S. Cohen, *Biochem. Pharmacol.* **24**, 1929 (1975).
- <sup>4)</sup> B. Jastorff und H. Hettler, *Chem. Ber.* **102**, 4119 (1969).
- <sup>5)</sup> R. Letsinger und W. S. Mungall, *J. Org. Chem.* **36**, 3029 (1971).
- <sup>6)</sup> K. Schattka und B. Jastorff, *Chem. Ber.* **105**, 3824 (1972).
- <sup>7)</sup> A. Murayama, B. Jastorff, F. Cramer und H. Hettler, *J. Org. Chem.* **36**, 3029 (1971).
- <sup>8)</sup> R. J. Suhadolnik, *Nucleoside Antibiotics*, S. 76, Wiley Interscience, New York 1970.
- <sup>9)</sup> K. A. Schellenberg, *J. Org. Chem.* **28**, 3259 (1962).
- <sup>10)</sup> C. A. Dekker, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 4027 (1965).
- <sup>11)</sup> N. K. Kochetkov und E. I. Budovskii, *Organic Chemistry of Nucleic Acids, Part B*, S. 356, Plenum Press, London und New York 1972.
- <sup>12)</sup> P. Quitt, J. Hellerbach und K. Vogler, *Helv. Chim. Acta* **46**, 327 (1963).
- <sup>13)</sup> R. R. Schmidt, U. Schloz und D. Schwille, *Chem. Ber.* **101**, 590 (1968).
- <sup>14)</sup> G. Roesler, Dissertation, S. 34, Techn. Univ. Braunschweig 1974.
- <sup>15)</sup> B. Jastorff, Univ. Bremen, private Mitteilung.
- <sup>16)</sup> K. Yamauchi, T. Tanabe und M. Kinoshita, *J. Org. Chem.* **41**, 3691 (1976).
- <sup>17)</sup> K. Kusashio und M. Yoshikawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **41**, 142 (1968).
- <sup>18)</sup> L. Grotjahn und M. Morr, in Vorbereitung.

[448/78]