

Discadenin-Derivate ohne cytokininaktiven Δ^2 -Isopentenylrest

Frank Seela* und Doris Hasselmann

Universität Paderborn – Gesamthochschule, Fachbereich Naturwissenschaften II – Organische Chemie, Warburger Str. 100, D-4790 Paderborn

Eingegangen am 31. August 1979

Discadenine Derivatives without Cytokinin Active Δ^2 -Isopentenyl Residue

Alkylation of adenine with ethyl 4-bromo-2-l-phthalimidobutyrate yields the *N*-3-alkylated derivative **4a**. After removal of the protecting groups in **4a** L-(+)-discadenine without cytokinin active N^6 - Δ^2 -isopentenyl residue (**3a**) is obtained. It shows similar inhibition of the spore germination as L-(+)-discadenine (**1**). The derivatives **3b** and **c** with modifications in the *N*-3 side chain are prepared analogously. The pK_a value of 5.67 implies that protonation around the physiological pH value plays a key role in the biosynthesis and the regulatory function of discadenine.

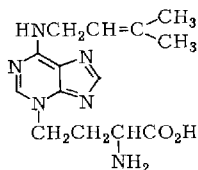
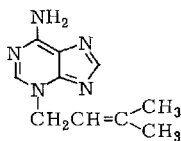
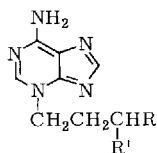
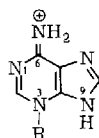
Discadenin (**1**)^{1,2}), ein aus dem Schleimpilz *Dictyostelium discoideum* isolierter³) und kürzlich in seiner L-Form synthetisierter⁴) Inhibitor der Sporenkeimung, zeigt neben seiner Inhibitorwirkung auch Cytokininaktivität. Da Cytokine⁵), die sich von den Purinen ableiten, als charakteristisches Strukturelement den Δ^2 -Isopentenylrest (3,3-Dimethylallylrest) enthalten, ist zu vermuten, daß die Sporenkeimungsinhibition im Zusammenhang mit der *N*-3-Alkylierung des Adenin-Heterocyclus durch den (3-L-Amino-3-carboxypropyl)-Rest steht, während die Cytokininaktivität durch den N^6 -(3,3-Dimethylallylamino)-Rest hervorgerufen wird. Biosynthetische Vorstufe des Δ^2 -Isopentenylrestes ist Δ^2 -Isopentenylpyrophosphat⁶), des (3-L-Amino-3-carboxypropyl)-Restes *S*-Adenosyl-L-methionin⁶). Aminosäurereste wie beim Discadenin sind bisher nur beim Nicotianin⁷), einem Pyridin-Alkaloid aus Tabakblättern, und beim seltenen Nucleosid X^{8,9,10}), einem Bestandteil von *E. coli*-Transfer-RNA, gefunden worden.

Für synthetisches L-Discadenin konnte kürzlich gezeigt werden, daß es die gleiche Aktivität bei der Sporenkeimungsinhibition wie das Naturprodukt besitzt¹¹). Überraschenderweise zeigten aber auch die Desamino- und Descarboxy-Derivate⁴) eine sehr hohe Aktivität.

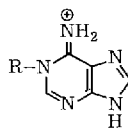
Um nun den Einfluß der Aminosäurekette und des Δ^2 -Isopentenylrestes auf die biologische Funktion von Discadenin getrennt untersuchen zu können und auch einen tieferen Einblick in den Biosynthesemechanismus zu bekommen, haben wir Discadeninderivate dargestellt, die sich von den bisher synthetisierten⁴) darin unterscheiden, daß sie keinen Δ^2 -Isopentenylrest enthalten. Solche Adeninderivate besitzen durch die *N*-3-Substitution strukturelle Ähnlichkeit zum Triacanthin (**2**)¹²), einem Alkaloid aus den Blättern von *Gleditsia triacanthos* L., auch zeigen *N*-3-alkylierte Adenine antivirale Aktivität gegen Herpes- und Vaccina-Viren¹³).

Die Synthese von L-Discadenin hatte gezeigt, daß die Alkylierung des N^6 -(Δ^2 -Isopentenyl)adenins an *N*-3 erfolgt⁴). Wir haben deshalb Adenin unter den gleichen Bedingungen wie das Δ^2 -Isopentenyl-Derivat mit 4-Brom-2-L-phthalimidobuttersäure-ethylester alkyliert und erhielten in guter Ausbeute ein Hydrobromid, das in seine freie Base übergeführt und nach Chromatographie analysenrein erhalten werden konnte. Die Verbindung weist einen Drehwert $[\alpha]_D^{23} = -25.2^\circ$ auf, was die Erhaltung der L-Konfiguration im Aminosäurerest anzeigt. Ihr langwelliges UV-Absorptionsmaximum liegt bei 278 nm und damit fast 20 nm längerwellig als bei Adenin. Das

^{13}C -NMR-Spektrum weist für den Heterocyclus ähnliche chemische Verschiebungen wie das geschützten L-Discadenins auf (Tab. 1)⁴⁾. Die NMR-spektroskopischen Befunde und die bathochrome Verschiebung im UV zeigen *N*-3-Alkylierung und damit Bildung von **4a** an.

**1****2****3a** · HCl**b**: H statt α -NH₂**c**: H statt CO₂H; · 2 HCl**4a**: R = Phthalimido; R' = CO₂C₂H₅**b**: R = H; R' = CO₂C₂H₅ · HBr**c**: R = Phthalimido; R' = H · HBr**5a**

R = Alkylrest

**5b**

Zur Darstellung des Desaminoderivates **4b** und der Descarboxyverbindung **4c** wurde Adenin in *N,N*-Dimethylacetamid mit 4-Brombuttersäure-ethylester bzw. mit *N*-(3-Brompropyl)phthalimid alkyliert. Beide Verbindungen weisen im UV bei 276 nm die gleiche langwellige Absorptionsbande wie **4a** auf und unterscheiden sich auch im ^1H -NMR und ^{13}C -NMR von der Stammverbindung **4a** nur in den Signalen des *N*-3-Substituenten (Tab. 1).

Tab. 1. ^{13}C -NMR-Signale *N*³-substituierter Adenin-Derivate in [D₆]DMSO/DCI, δ -Werte, TMS als interner Standard

	Heterocyclus					$\alpha(\text{N}^3)\text{C}$	<i>N</i> ³ -Seitenkette		C=O
	C-2	C-4	C-5	C-6	C-8		βC	γC	
2a)	147.84	147.46	110.34	153.22	144.41	47.46	117.21	139.56	
3a	148.29	147.39	110.28	153.34	144.21	49.28	29.01	43.26	169.73
3b	148.17	147.65	110.54	153.41	144.74	49.15	24.09	30.50	173.42
3c^{b)}	149.3	148.7 ^{c)}	111.6 ^{c)}	154.7 ^{c)}	146.2	48.7	27.8	37.6	
4a	148.36	147.46	110.35	153.28	144.15	49.02	27.59	49.02	168.30
4b	148.17	147.65	110.54	153.48	144.67	49.02	23.96	30.37	171.93
4c	148.30	147.46	110.54	153.48	144.74	47.66	27.46	34.58	
	OCH ₂	CH ₃	C=O	Phthaloyl-Rest aromat. C					
4a	61.72	13.79	167.33	135.02	131.07	123.43			
4b	59.83	13.92							
4c			167.92	134.37	131.66	122.98			

a) CH₃ δ = 25.32 und 18.00. – b) In D₂O/DCI mit MeOH als Standard. – c) Geringe Intensität.

Die bevorzugte Alkylierung von Adenin an N-3 gegenüber N-1 mag darauf zurückzuführen sein, daß das *p*-chinoide Alkylierungsprodukt **5a** gegenüber dem *o*-chinoiden **5b** thermodynamisch begünstigt ist.

Erst wenn N-9, wie bei Adenosin, durch einen raumerfüllenden Substituenten, den β -D-Ribofuranosyl-Rest, glycosidiert ist, wird N-3 geschützt und der elektrophile Angriff nach N-1 gelenkt. Das kinetisch kontrollierte Produkt (1-Methyladenosin) erfährt dann in der deprotonierten Form Dimroth-Umlagerung und stabilisiert sich dadurch zur N^6 -Alkylverbindung¹⁴). Die N-1-Alkylierung kann jedoch wieder verhindert werden, wenn Adenosin als Nucleotid im doppelhelicalen Verband einer Nucleinsäure vorliegt. Hier ist das N-1-Elektronenpaar durch Watson-Crick-Basenpaarung beansprucht und außerdem die heterocyclische Base aus der *syn*-Konformation, die N-3 schützt, herausgedreht¹³). Die Alkylierung erfolgt wieder an N-3. *N*-3-Alkylierte Adenosin-Derivate erleiden spontane Spaltung an der *N*-Glycosidbindung unter Bildung der Apurinsäure und des *N*-3-alkylierten Aglycons^{15,16}). Dieses Phänomen ist wichtig zum Verständnis der mutagenen Wirkung alkylierender Agenzien, wie z. B. Ethionin¹⁷), und mag ein möglicher Schritt in der Biosynthese von Discadenin sein.

Von den *N*-3-alkylierten Derivaten **4a** und **c** lassen sich die Schutzgruppen durch Hydrazinolyse entfernen. Das Hydrazinolyseprodukt von **4a** wurde nicht isoliert, sondern direkt der alkalischen Hydrolyse unterworfen. Chromatographie am Anionenaustauscher führt zu kristallinem **3a**. Es besitzt mit $[\alpha]_D^{23} = +26.2^\circ$ einen vergleichbaren Drehwert wie 1-Discadenin und zeigt wie dieses die gleiche intensive Ninhydrinreaktion.

Alle Discadeninderivate ohne Isopentenylrest sind wegen des Fehlens der lipophilen Gruppe wesentlich besser wasserlöslich als die Verbindungen mit N^6 -Seitenkette. Wegen der schwierigen Abtrennung von Alkali-Ionen bei alkalischer Hydrolyse wurde **4b** mit Bromwasserstoffsäure hydrolysiert.

Die ¹H-NMR-Spektren der Discadenin-Derivate **3a** – **c** waren aufgrund der geringen Anzahl der Ringprotonen weniger aussagekräftig als die ¹³C-NMR-Spektren, die im Bereich der Ringkohlenstoffe sowohl untereinander (Tab. 1) als auch mit den entsprechenden N^6 - Δ^2 -Isopentenylverbindungen⁴) sehr gut übereinstimmen. Aufgrund der ¹³C-NMR-Daten konnte auch eine Zuordnung des ¹³C-NMR-Spektrums von Triacanthin vorgenommen werden (Tab. 1). Um die Verbindungen immer in der protonierten Form vorliegen zu haben, wurden alle Spektren entweder direkt von den Hydrochloriden bzw. Hydrobromiden oder nach Zusatz von DCl aufgenommen.

Tab. 2. Chromatographische und elektrophoretische Mobilitäten von **3a** – **c**

	Cellulose R_F (BuOH/H ₂ O 5:1:2)	Cellulose R_E (0.1 M Natriumcitrat, pH 6.5)
3a	0.17*)	1.0 (–)*)
3b	0.44	0.5 (+)
3c	0.20*)	3.0 (–)*)

*) Ninhydrinpositiv.

In Tab. 2 werden die chromatographischen und elektrophoretischen Mobilitäten von **3a** – **c** verglichen. **3a** – **c** zeigen zueinander ein ähnliches chromatographisches Verhältnis wie die Verbindungen mit N^6 - Δ^2 -Isopentenyl-Rest. Die Derivate ohne Δ^2 -Isopentenyl-Rest wandern jedoch in der Dünnschichtchromatographie wesentlich langsamer als die Δ^2 -Isopentenylverbindungen⁴).

Die langwelligeren Absorptionsmaxima der UV-Spektren der Verbindungen ohne Isopentenyl-Rest besitzen gegenüber den N^6 -substituierten Verbindungen ein um ca. 20 nm kürzerwelliges Absorptionsmaximum. Charakteristisch ist jedoch für alle Verbindungen, daß die Extinktion des

langwelligen Maximums im sauren Bereich deutlich ansteigt und sich das Minimum kurzweilig verschiebt. Von **3a** wurde der pK_a -Wert spektroskopisch zu 5.67 bestimmt. Der Heterocyclus des Discadenin-Derivates **3a** und damit auch von L-Discadenin liegt also im neutralen Bereich weitgehend als freie Base vor. Da im physiologisch erreichbaren pH-Bereich nicht nur die Ionisierung des Heterocyclus erfolgt, sondern auch Ladungsveränderungen am Aminosäure-Rest auftreten, vermuten wir, daß dieses Phänomen einen Teil der regulatorischen Funktion von Discadenin ausmacht. Im Sporenceimungstest ist das Discadenin-Derivat ohne Isopentenylrest (**3a**) vergleichbar wirksam wie L-Discadenin (**1**)¹¹.

Herrn Dr. M. Kröger danken wir für die Bestimmung des pK_a -Wertes und Herrn B. Seeger für die Aufnahme der ¹³C-NMR-Spektren. Die Arbeit wurde aus Mitteln der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* unterstützt.

Experimenteller Teil

¹H- und ¹³C-NMR-Spektren: Bruker HX-60 und Varian EM 390-Spektrometer, δ -Werte relativ zu Tetramethylsilan (TMS). – Massenspektren: Varian MAT 311 A (70 eV, ca. 50 °C). – UV-Spektren: Zeiss PMQ 3 oder Shimadzu UV-200-Spektrometer. – Optische Drehungen: Perkin-Elmer 241-Polarimeter. – Schmelzpunkte: Berl-Block (Wagner und Munz, München), nicht korrigiert. – Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Beller, Göttingen. – pK_a -Bestimmung: 0.2 M Phosphatpuffer, Auftragung von E_{278} gegen den pH-Wert.

Dünnschichtchromatographie (DC) und Dünnschichtelektrophorese (DE): Kieselgel F 254-Platten (Woelm, Eschwege) bzw. Celluloseplatten F (Merck, Darmstadt). – Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (230–400 mesh ASTM, Merck, Darmstadt) oder Celluloseionenaustauscher CM 52 (Whatman, Maidstone), Dowex 1X2, OH[⊖]-Form (Serva, Heidelberg), Lewatit S 1080, H[⊕]-Form (Merck, Darmstadt). Als Substanznachweis diente die UV-260-Absorption bzw. die Ninhydrinreaktion. Bei präparativer Chromatographie waren die Säulen mit einem Uvicord II und einem UltraRac Fraktionen-Sammler (LKB-Instruments, Bromma, Schweden) verbunden. – Dünnschichtelektrophorese: TLE-Doppelkammer (Desaga, Heidelberg), auf ca. 1 °C temperiert.

Laufmittel für die DC bzw. DE: A (Chloroform/Methanol, 9: 1); B (Chloroform/Methanol, 85: 15); C (Wasser/Methanol, 9: 1); D (Chloroform/Methanol, 9: 1); E (Butanol/Eisessig/Wasser, 5: 1: 2); F (0.15 M Na-Phosphat, pH 7); G (0.25 M LiCl); H (0.1 M Sörensen/Citratpuffer, pH 6.5).

3-(3-Ethoxycarbonyl-3-L-phthalimidopropyl)adenin (4a): Die Lösung von 1.0 g (7.4 mmol) Adenin und 7.0 g (20.6 mmol) 4-Brom-2-L-phthalimidobuttersäure-ethylester in 30 ml *N,N*-Dimethylacetamid wird 8 h bei 120 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. abgezogen und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Man stellt mit Ammoniak auf pH 8 ein, extrahiert mit Ethylacetat und schüttelt die org. Phase mit Wasser aus. Der Abdampfrückstand der organischen Phase wird an einer 35 × 4-cm-Kieselgelsäule (A) chromatographiert, die schnell wandernde Hauptzone wird abgetrennt und das Eluat eingedampft. Durch Nachdampfen mit Methanol werden 1.54 g (52.8%) farbloses schaumiges **4a** erhalten. $[\alpha]_D^{23} = -25.2^\circ$ ($c = 0.65$, Methanol). – DC (Kieselgel, B): R_F 0.5. – UV (Methanol): λ_{\max} 278 nm ($\epsilon = 11800$). – ¹H-NMR ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.10$ (t, CH₃-Ester, $J = 6$ Hz), um 3 (m, CH₂), 4.12 (CH₂-Ester, $J = 6$ Hz), 4.46 (t, N-3-CH₂, $J = 7.5$ Hz), 4.93 (dd, CH, $J = 7.5$ und 4.0 Hz), 7.77 (s, 1 arom. H), 7.97 (s, 5 arom. H), 8.30 (s, NH₂).

C₁₉H₁₈N₆O₄ (394.4) Ber. C 57.86 H 4.60 N 21.31 Gef. C 57.73 H 4.67 N 21.22

3-(3-Ethoxycarbonylpropyl)adenin-hydrobromid (4b): Eine Suspension von 1.0 g (7.4 mmol) Adenin und 4.21 g (21.6 mmol) 4-Brombuttersäure-ethylester in 20 ml Dimethylacetamid wird 8 h unter Rühren bei 120°C gehalten, wobei sich das Adenin löst. Man läßt abkühlen, verdampft das Lösungsmittel i. Hochvak. und kristallisiert den festen Rückstand aus Ethanol um. 1.4 g (57.4%) gelbliche Nadeln vom Schmp. 213–215°C. – DC (Kieselgel, A): R_F 0.35. – UV (Methanol): λ_{\max} 276 nm ($\epsilon = 14000$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 1.13$ (t, CH_3 -Ester, $J = 6$ Hz), 2.20 und 2.40 (m, 2 aliph. CH_2), 3.98 (q, CH_2 -Ester, $J = 6$ Hz), 4.48 (t, N-3- CH_2 , $J = 7.5$ Hz), 8.70 (s, 1 arom. H), 8.83 (s, 1 arom. H), 8.80 u. 9.36 (2 NH, breit).

$[\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_2]\text{Br}$ (330.2) Ber. C 40.01 H 4.88 N 21.17 Br 24.20
Gef. C 40.09 H 4.98 N 21.22 Br 24.38

3-(3-Phthalimidopropyl)adenin-hydrobromid (4c): Die Lösung von 1.0 g Adenin (7.4 mmol) und 5.8 g (21.6 mmol) *N*-(3-Brompropyl)phthalimid in 20 ml Dimethylacetamid wird unter Rühren 8 h bei 120°C gehalten. Man läßt abkühlen, verdampft das Lösungsmittel i. Hochvak. und kocht den Rückstand mit 100 ml Wasser aus. Nach Aufbewahren des Filtrates im Kühlschrank filtriert man durch ein hartes Filter und engt bis zur Trockene ein. Der Rückstand wird in der Siedehitze in Methanol suspendiert und durch Zusatz von wenig Wasser in Lösung gebracht. Beim Abkühlen kristallisieren 1.5 g (50.3%) farblose Kristalle aus, die oberhalb von 270°C unter Zersetzung schmelzen. – DC (Kieselgel, C): R_F 0.37. – UV (Methanol): λ_{\max} 240, 276 nm ($\epsilon = 13200$, 12200). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 2.30$ (t, CH_2 , $J = 7$ Hz), 3.67 (t, NCH_2 , $J = 7$ Hz), 4.47 (t, N-3- CH_2 , $J = 7$ Hz), 7.87 (s, 4 arom. H), 8.57 (s, 1 arom. H), 8.77 (s, 1 arom. H), 9.30 (breit, 1H).

$[\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_2]\text{Br}$ (403.2) Ber. C 47.66 H 3.75 N 20.84 Br 19.82
Gef. C 47.80 H 3.83 N 20.78 Br 19.79

3-(L-3-Amino-3-carboxypropyl)adenin-hydrochlorid (3a): Die Lösung von 1.64 g (4.16 mmol) **4a** in 30 ml Methanol wird mit 405 μl 50proz. wäbr. Hydrazin versetzt, 1 h auf 100°C erwärmt, erneut mit 405 μl Hydrazinlösung versetzt und 1 h bei gleicher Temp. gehalten. Man läßt abkühlen und vertreibt Hydrazin durch Nachdampfen von Methanol. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und die Lösung mit 1 N Essigsäure auf pH 5 eingestellt, wobei Phthalhydrazid ausfällt. Man filtriert, engt ein und vertreibt Essigsäure durch Nachdampfen mit Wasser und Toluol. Der ölige Rückstand wird in einer Mischung aus 24 ml Ethanol/24 ml 1 N NaOH 30 min bei Raumtemp. gerührt, die Lösung mit 1 N Essigsäure neutralisiert und eingengt. Man nimmt in 120 ml Wasser auf und adsorbiert an einer 35 \times 3.5-cm-Ionenaustauschersäule (Dowex 1X2, OH^\ominus). Man wäscht mit Wasser und eluiert **3a** mit 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonatlösung, engt das Eluat ein, dampft Wasser nach und vertreibt i. Hochvak. Ammoniumacetat. Man versetzt den Rückstand mit wenigen ml 1 N HCl, dampft ab, nimmt in Wasser auf, kocht mit Aktivkohle, filtriert und engt erneut ein. 770 mg (68%) Rohprodukt, das aus Wasser/2-Propanol in gelblichen Nadeln vom Schmp. 249°C (Zers.) kristallisiert. $[\alpha]_D^{23} = +26.2^\circ$ ($c = 0.6$, 0.1 N HCl). – DC (Kieselgel, G): R_F 0.56. (Cellulose, E): R_F 0.17. – UV (Wasser): λ_{\max} = 275 nm ($\epsilon = 12700$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}/\text{DC}$): δ um 2.5 (m, CH_2), 4.13 (t, CH, $J = 3$ Hz), 4.76 (t, N-3- CH_2 , $J = 3$ Hz), 8.76 (1 arom. H), 9.00 (1 arom. H).

$[\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_6\text{O}_2]\text{Cl}$ (272.7) Ber. C 39.64 H 4.81 N 30.82 Gef. C 39.33 H 4.89 N 30.43

3-(3-Carboxypropyl)adenin-hydrobromid (3b · HBr): 1.0 g (3.0 mmol) des Hydrobromids **4b** werden 10 h in 20 ml halbkonz. Bromwasserstoffsäure bei 80°C gehalten. Das Lösungsmittel wird verdampft und der Rückstand aus Wasser kristallisiert. 600 mg (66%) farblose Nadeln vom Schmp. 250–256°C. – DC (Kieselgel, F): $R_F = 0.57$. – UV (Methanol): λ_{\max} 276 nm ($\epsilon = 15300$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 2.29$ (m, 2 CH_2), 4.47 (m, N-3- CH_2), 8.66 (s, 1 arom. H), 8.80 (s, 1 arom. H), 8.98 (s, OH), 9.30 (s, 1H).

$[\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_2]\text{Br}$ (302.2) Ber. C 35.77 H 4.00 N 23.18 Br 26.44
Gef. C 35.93 H 4.20 N 23.28 Br 26.45

3-(3-Carboxypropyl)adenin (3b): 1.0 g des Hydrobromids von **3b** werden in der Wärme unter Zusatz von Ammoniak in wenig Wasser gelöst. Die Lösung wird auf pH 10 eingestellt. Durch langsame Zugabe von 1 N Essigsäure (bis pH 5) kristallisiert die Säure **3b** in farblosen Kristallen aus. 0.60 g (82%) vom Schmp. 285–287°C. – DC (Kieselgel, G): R_F 0.42. – UV (Phosphatpuffer, pH 7): λ_{\max} 274 nm ($\epsilon = 13300$). – MS: $m/e = 221$ (23%, M^+), 207 (4), 176 (20), 149 (100), 135 (100).

$C_9H_{11}N_5O_2$ (221.2) Ber. C 48.86 H 5.01 N 31.66 Gef. C 48.90 H 5.11 N 31.65

3-(3-Aminopropyl)adenin-dihydrochlorid (3c): Die Lösung von 806 mg (2.0 mmol) **4c** in 20 ml Methanol wird mit 512 μ l 50proz. wäbr. Hydrazin versetzt und 2 h bei 100°C gehalten. Man gibt erneut 256 μ l Hydrazinlösung zu und erwärmt eine weitere h auf 100°C. Die Lösung wird eingedampft, Hydrazin durch Nachdampfen von Methanol vertrieben und der Rückstand in 150 ml Wasser aufgenommen. Mit 1 N Essigsäure wird auf pH 6 eingestellt, wobei Phthalhydrazid ausfällt. Man filtriert, adsorbiert an einer 30 \times 2-cm-Kationenaustauschersäule (Lewatit S 1080, H^+ -Form), wäscht mit Wasser und 2 N HCl und eluiert **3c** mit 1000 ml 3 N HCl/1000 ml 6 N HCl (linearer Gradient). Der Inhaltsstoff der Hauptzone fällt beim Abdampfen amorph aus. 263 mg (50%) ninhydrinpositive Substanz, die im DC (Laufmittel F) mit $R_F = 0.77$ wandert. – UV (Wasser): λ_{\max} 274 nm ($\epsilon = 12600$). – 1H -NMR ($[D_6]DMSO$): $\delta = 2.33$ (m, CH_2), 2.93 (t, NCH_2 , $J = 6$ Hz), 4.60 (t, N- CH_2 , $J = 6$ Hz), 8.70 (s, 1 arom. H), 8.83 (s, 1 arom. H).

$[C_8H_{14}N_2]Cl_2$ (265.2) Ber. C 36.24 H 5.28 N 31.70 Gef. C 36.39 H 5.20 N 31.64

Zur Darstellung der freien Base wird das Dihydrochlorid an einer Ionenaustauschersäule (Whatman, CM 52, TBK-Form) adsorbiert und mit 500 ml Wasser/500 ml wäbrigem 1 M Triethylammoniumhydrogencarbonat (linearer Gradient) eluiert. Man engt ein und vertreibt Triethylamin durch Nachdampfen mit Methanol. – MS: $m/e = 192$ (48%, M^+), 191 (42), 176 (12), 163 (35), 162 (33), 149 (100), 148 (100), 135 (100).

Literatur

- 1) Y. Tanaka, Y. Hashimoto, K. Yanagisawa, H. Abe und M. Uchiyama, *Agric. Biol. Chem.* **39**, 1929 (1975).
- 2) H. Abe, M. Uchiyama, Y. Tanaka und H. Saito, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 3807.
- 3) Y. Obata, H. Abe, Y. Tanaka, K. Yanagisawa und M. Uchiyama, *Agric. Biol. Chem.* **37**, 1989 (1973).
- 4) F. Seela und D. Hasselmann, *Chem. Ber.* **112**, 3072 (1979).
- 5) R. H. Hall, *The Modified Nucleosides in Nucleic Acids*, Columbia University Press, New York 1971.
- 6) Y. Taya, Y. Tanaka und S. Nishimura, *FEBS Lett.* **89**, 326 (1978).
- 7) M. Noguchi, H. Sakuma und E. Tamaki, *Phytochemistry* **7**, 1861 (1968).
- 8) Z. Ohashi, M. Maeda, J. A. McCloskey und S. Nishimura, *Biochemistry* **13**, 2620 (1974).
- 9) F. Seela und F. Cramer, *Chem. Ber.* **109**, 82 (1976).
- 10) F. Seela, Q. Hoa Tran Thi und D. Hasselmann, *Chem. Ber.* **112**, 700 (1979).
- 11) H. Kersten (unveröffentlicht).
- 12) N. J. Leonard und J. A. Deyrup, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 2148 (1962).
- 13) T. Fujii, G. C. Walker und N. J. Leonard, *J. Med. Chem.* **22**, 125 (1979).
- 14) O. Dimroth, *Liebigs Ann. Chem.* **373**, 336 (1910); D. G. M. Martin und C. B. Reese, *J. Chem. Soc. C* **1968**, 1731.
- 15) P. D. Lawley und P. Brookes, *Biochem. J.* **89**, 127 (1963).
- 16) E. Kriek und P. Emmelot, *Biochim. Biophys. Acta* **91**, 59 (1964).
- 17) J. C. Acros, M. E. Argus und G. Wolf, *Chemical Induction of Cancer*, Vol. I, Academic Press, New York 1968.