

Synthese und Eigenschaften von 5'-Desoxynucleosid-5'-carbonsäuren und ihren Derivaten

Wilfried Meyer und Hartmut Follmann*

Fachbereich Chemie der Universität Marburg,
Hans-Meerwein-Str., D-3550 Marburg

Eingegangen am 15. November 1979

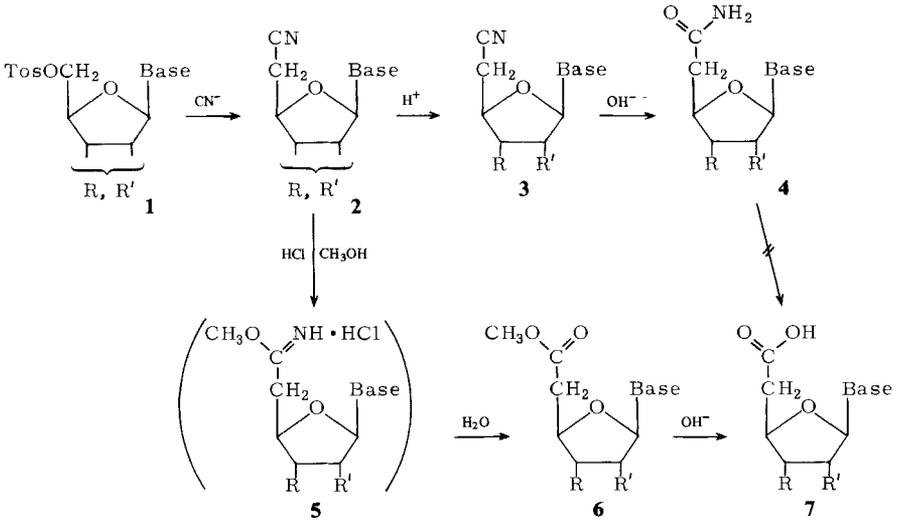
Die Darstellung von bisher nicht allgemein zugänglichen 5'-Desoxynucleosid-5'-carbonitrilen (**3**) gelingt sowohl in der Ribo- wie 2'-Desoxyribonucleosidreihe, wenn man Nucleosid-5'-tosylate mit festem KCN unter Kronenether-Katalyse in organischen Lösungsmitteln umsetzt. Auch *O*²,5'-Cyclopyrimidinnucleoside eignen sich als Ausgangsmaterial. Aus den Nitrilen **3** sind unter vorzugsweise sauren Reaktionsbedingungen die Ester **6** und aus ihnen die 5'-Desoxynucleosid-5'-carbonsäuren (**7**) erhältlich, die sich als Nucleotid-Modelle in biochemischen Systemen eignen. In alkalischer Lösung erleiden die Nitrile **3** rasche Eliminierung der Purin- oder Pyrimidinbase. Aus dem Adennucleosid **3a** entsteht dabei ferner unter Addition des ungesättigten Zuckerfragmentes **10** das an N⁶ zu einem Pyrrolidin modifizierte Nucleosid **12**. Wie in anderen C-5'-modifizierten Nucleosiden zeigen die Circular dichroismus-Spektren der neuen Verbindungen eine starke elektronische Wechselwirkung zwischen polaren C-5'-Substituenten und den Chromophoren an.

Synthesis and Properties of 5'-Deoxynucleoside 5'-Carboxylic Acids and Derivatives

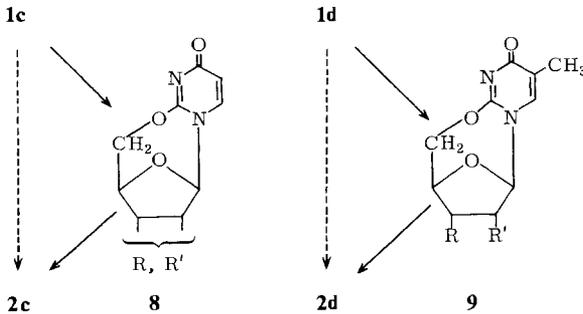
A preparative route to 5'-deoxynucleosid-5'-carbonitriles (**3**), both of the ribose and deoxyribose series, involves crown ether-catalyzed reaction of nucleoside 5'-tosylates with solid potassium cyanide in organic solvents. *O*²,5'-Cyclo derivatives of pyrimidine nucleosides can also serve as starting materials. The nitriles **3** require acidic conditions for conversion to the esters **6** of 5'-deoxynucleoside 5'-carboxylic acids (**7**) which are suitable nucleotide models for biochemical studies. In alkaline solutions compounds **3** undergo rapid elimination of the purine or pyrimidine base. Furthermore the adenine derivative **3a**, under addition of the unsaturated sugar fragment **10** yields a new nucleoside **12** in which N⁶ is inserted in a pyrrolidine ring. The circular dichroism spectra of the new compounds reflect strong electronic interaction between polar C-5'-substituents and the chromophores and are in line with those of other C-5'-modified nucleosides.

Nucleoside und Nucleotide mit Strukturmodifikationen am exocyclischen C-5'-Atom haben zur Untersuchung der Spezifität und Mechanismen von Enzymen des Nucleotidstoffwechsels^{1–4}, der Molekülkonformationen und intramolekularen Wechselwirkungen^{5,6} und in Einzelfällen auch durch ihre pharmakologische Wirkung^{7,8} Bedeutung erlangt. Besonders interessieren Carboxylgruppen tragende Verbindungen, die den Phosphatrest der natürlichen Nucleotide zu simulieren vermögen. Dabei hat sich gezeigt, daß die aus Nucleosiden durch Oxidation der terminalen CH₂OH-Gruppe einfach zugänglichen Nucleosid-5'-uronsäuren als Modellsubstanzen i. allg. wenig befriedigen, weil in ihnen die Molekülteile starr fixiert sind^{9,10}. Die Substitution von C-5' durch weitere C-Atome, d. h. eine direkte Kettenverlängerung von Nucleosiden zu Derivaten der homologen Hexo- oder Heptofuranoside ist jedoch bisher nur in Ausnahmefällen gelungen^{9,11–13}. In dieser Arbeit beschreiben wir eine offenbar allgemein anwendbare Reaktion,

die ausgehend von den leicht erhältlichen 5'-*O*-Toluolsulfonylribo- oder 2'-desoxyribonucleosiden (**1**) zu 5'-Desoxynucleosid-5'-carbonsäuren (5'-Desoxy- β -D-ribo-hexofuranosyl-6'-uronsäure-purinen bzw. -pyrimidinen, **7**) und deren Nitrilen, Amiden und Estern führt. Über das Prinzip der Reaktion wurde bereits kurz berichtet¹⁴⁾.



	1a,2a	3a,4a,6a,7a	3b,4b,6b,7b	1c,2c	3c	1d,2d	3d,6d,7d
Base	Adenin		Hypoxanthin	Uracil		Thymin	
R	$\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$	OH	OH	$\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$	OH	OCOCH_3	OH
R'	$\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$	OH	OH	$\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$	OH	H	H



Für die nucleophile Substitution des Tosylatrestes durch Cyanid machten wir uns das Prinzip der Phasentransferkatalyse mit Kronenether zunutze¹⁵⁾, das in der Nucleosidchemie bisher kaum angewandt wurde. In Gegenwart eines Unterschusses von 18-Krone-6 reagieren die geschützten 5'-*O*-Tosylnucleoside **1a**, **c** und **d** in Dioxan- oder Acetonitrillösung mit trockenem, suspendiertem Kaliumcyanid bei Raumtemperatur zu den Nitrilen **2a**, **c**, **d**; ohne Kronenether sind i. allg. weder die Tosylate noch 5'-Desoxy-

5'-halogennucleoside mit KCN zur Umsetzung zu bringen, auch nicht in homogener Lösung in Dimethylformamid. Unter unseren Bedingungen entsteht aus **1a** das Adenosinderivat **2a** als einziges Produkt in bis zu 80proz. Ausbeute, wenn man die feste Phase aus Kaliumtosylat und überschüssigem KCN zweimal abtrennt und durch frisches KCN/Kronenether ersetzt. Im Falle der Pyrimidinnucleoside **1c** und **d** wirkt kronenether-aktiviertes Cyanid offenbar auch als Base zur Deprotonierung von N³ und es entstehen neben 25 % **2c** bzw. 45 % **2d** die O²,5'-Cyclonucleoside **8** und **9** (letzteres im Gemisch mit desacetyliertem **9**).

Bei Rückflußtemperatur wird die intramolekulare Cyclisierung zur Hauptreaktion, wodurch als Alternative zu älteren, wenig ergiebigen Darstellungsweisen^{16,17} ein einfacher präparativer Zugang zu diesen Cyclonucleosiden gegeben ist (Ausbeuten > 50%). Im Hinblick auf die Synthese der Nitrile **2c** und **2d** ist die Cyclonucleosidbildung kein schwerwiegender Nachteil, denn als intramolekular an C-5' funktionalisierte Verbindungen lassen sich **8** und **9** ihrerseits mit KCN/18-Krone-6 zu den Nitrilen weiter umsetzen. (In einer vergleichbaren Reaktion verläuft die Ringöffnung von O²,2'-Cyclocytidin durch KF/Kronenether¹⁸). Ob **2c** und **8** aus **1c** stets parallel gebildet werden oder ob die Bildung von **2c** obligatorisch über das Cyclonucleosid **8** verläuft, bleibt offen, denn es wurden keine Reaktionsbedingungen gefunden, unter denen ausschließlich **8** entsteht.

Die Synthese der 5'-Cyannucleoside ist kritisch von den beschriebenen Bedingungen abhängig. Zur Erzielung einer möglichst hohen Ausgangskonzentration der 5'-O-Tosylnucleoside im organischen Lösungsmittel müssen deren 2'- und 3'-OH-Funktionen durch übliche Schutzgruppen substituiert sein. Mit Natriumcyanid/15-Krone-5 wird nur sehr geringer Umsatz beobachtet. In Dimethylformamidlösung wird die basenkatalysierte Spaltung der N-Clycosidbindung¹⁹ zur Hauptreaktion. 5'-Desoxy-5'-iodnucleoside sind den 5'-Tosylaten als Ausgangsverbindungen unterlegen, weil beim Fortgang der Reaktion kronenether-aktiviertes Cyanid und Iodid miteinander konkurrieren. Die wahrscheinlich eine gute nucleofuge Gruppe¹⁵ tragenden 5'-Chlor-5'-desoxy-2',3'-O-isopropylidennucleoside haben wir nicht eingesetzt, weil sie ihrerseits erst aus den Tosylaten hergestellt werden müßten²⁰. Schließlich ist es uns bisher auch nicht gelungen, in analoger Weise das am Heterocyclus gebundene Chlor in 6-Chlor-2',3'-O-isopropylidenpurinribosid durch eine Cyangruppe zu substituieren.

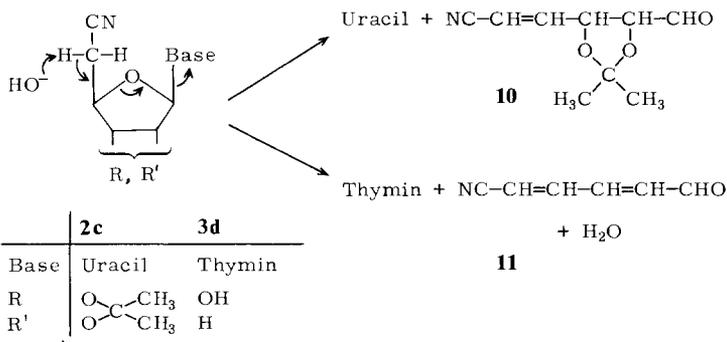
Die Abspaltung der Schutzgruppe aus **2a** und **c** gelingt leicht durch saure Hydrolyse. Auch der 3'-O-Acetylrest von **2d** wird am besten unter saurer Methanolyse entfernt, um die Tendenz der Nitrile zu Nebenreaktionen in alkalischer Lösung (s. u.) zu umgehen.

Die Verseifung der Nucleosid-5'-carbonitrile **3** zu den als Modellnucleotide erwünschten Carbonsäuren **7** erwies sich als präparativ schwierig, da die N-Glycosidbindung – insbesondere der Purinnucleoside – säurelabil ist, die Verbindungen aber wegen der Acidifizierung der 5'-Methylengruppe auch in alkalischer Lösung unter Abspaltung der Nucleobase zerstört werden. So isolierte man nach Behandlung von **3a** mit H₂O₂ in gepufferter alkalischer Lösung (pH 10) zwar das Carboxamid **4a** in 74proz. Ausbeute neben wenig **7a** und Adenin, doch alle Versuche zur Erhöhung der Ausbeute an **7a** oder der weiteren alkalischen Verseifung von **4a** zur Carbonsäure führten zur Eliminierung von Adenin. Dagegen gelang die saure Alkohololyse der geschützten Nitrile **2** bei -10 °C in trockenem, HCl-gesättigtem Methanol ohne Gefährdung der Glycosid-

bindung. Die Imidsäureester-hydrochloride **5** wurden nicht isoliert, sondern in Wasser aufgearbeitet. Dabei entstanden unter unseren Reaktionsbedingungen die Methylester **6a** und **d** zwar nur mit maximal 40% Ausbeute, doch konnten nicht umgesetzte Nitrile (**3a, d**) zurückgewonnen werden. Die Ester lieferten bei alkalischer Hydrolyse die entsprechenden Carbonsäuren **7**. Alkoholyse in höheren Alkoholen führte auf gleichem Wege zum Ethyl- und Isopropylester von **7a**. Da bei diesen Reaktionen 5'-Tosyl- oder Cyclonucleoside nicht stören, kann man auch in einem Eintopfverfahren das ursprüngliche Reaktionsgemisch (**1** → **2**) der Alkoholyse und Verseifung unterwerfen und zum Schluß das Endprodukt **7** direkt durch Anionenaustauschchromatographie isolieren und reinigen.

Die bekannte Desaminierung von Adenin- zu Hypoxanthinderivaten durch salpetrige Säure ist auf die Adenosinanalogen **3a, 4a, 6a** und **7a** leicht übertragbar. Sie ermöglicht eine einfache Darstellung der 5'-Desoxyinosin-5'-carbonsäure (**7b**), eines Homologen der bereits früher ausführlich studierten Inosin-5'-uronsäure²¹), sowie ihres Nitrils, Amids und Methylesters (**3b, 4b, 6b**).

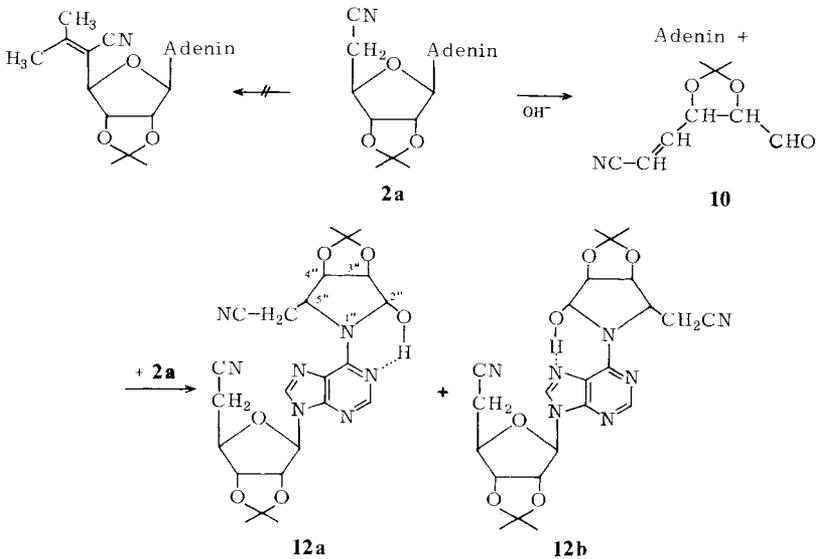
Eine hervorstechende Reaktionsweise der ganzen Verbindungsklasse ist die schon erwähnte Alkaliempfindlichkeit der Nitrile **2** und **3** in wäßrigem Medium. Der Abbau von **2c** bzw. **3d** in 0.1 N NaOH läßt sich spektroskopisch gut verfolgen, da aus den bei 258 bzw. 265 nm absorbierenden Verbindungen die längerwellig absorbierenden Basen Uracil bzw. Thymin (λ_{\max} 285 bzw. 290 nm bei pH 13) entstehen, deren Identität ebenso wie die des Adenins bei Verseifungsversuchen von **3a** auch chromatographisch sichergestellt wurde. Aus den isosbestische Punkte bei 269 bzw. 277 nm aufweisenden Kurvenscharen läßt sich ein mit einer Halbwertszeit von 8 min ablaufender Zerfall zu je zwei Produkten konstanten Verhältnisses ersehen:



Die unter Eliminierung der Nucleobase (und eines weiteren Moleküls Wasser im Fall des Desoxyribosids **3d**) zu erwartenden ungesättigten Verbindungen **10** und **11** ließen sich nicht in Substanz fassen, da sie in der alkalischen Lösung Folgereaktionen eingehen (s. u.). Das Absorptionsmaximum des aus **3d** entstehenden Substanzgemisches (265 nm bei pH 7, 321 nm bei pH 13) steht jedoch mit einem Gehalt an 6-Oxo-2,4-hexadiennitril (**11**), für das $\lambda_{\max} = 263$ nm (in Ethanol) angegeben wird²²), nicht im Widerspruch, und das bisher unbekannte Nitril **10** läßt sich in einem Folgeprodukt (**12**) wiedererkennen. Daß die Spaltung der Glycosidbindung eine Primärreaktion ist, wird

auch durch das rasche und völlige Verschwinden der langwelligen Cotton-Effekte im CD-Spektrum der Nucleoside belegt, was zuckermodifizierte Nucleoside mit intakter Glycosidbindung als Intermediate ausschließt. Eine konzertierte E_2 -Reaktion als Folge der Deprotonierung an C-5', wie oben für **2c** und **3d** formuliert, wurde für die alkalische Hydrolyse von *S*-Adenosylmethionin und verwandten 5'-Desoxy-5'-sulfonioadenosinen bewiesen²³⁾.

Beim Versuch, die aktive Methylengruppe des Adenosinnitrils **2a** unter Basenkatalyse in weitere, kettenverlängernde Kondensationsreaktionen, z. B. mit Aceton, einzubeziehen, erhielten wir neben Adenin nicht das erwartete C-5'-substituierte Nitril, sondern ein Selbstkondensationsprodukt, dem wir die Konstitution **12** eines N^6 -disubstituierten Adenosins zuordnen. **12** kann man sich durch zweifache Addition des zunächst als Spaltprodukt aus **2a** entstandenen ungesättigten Aldehyds **10** an die Aminogruppe eines weiteren Moleküls **2a** unter Bildung eines Pyrrolidinrings entstanden denken:



Eine vergleichbare Modifizierungsreaktion ist u. W. an Adennucleosiden bisher nicht bekannt. Die Konstitution **12** folgt aus der massenspektrometrisch ermittelten Molmasse von 497 ($C_{23}H_{27}N_7O_6$), die um einen kompletten Zuckerrest (Masse 181) größer ist als die von **2a**, während ein Adenin-(oder M-Adenin)-Fragment im Massenspektrum nicht mehr vorkommt. Das pH-abhängige UV-Spektrum ist nicht wie das von **2a** mit dem des Adenosins, sondern mit dem des N^6 -Dimethyladenosins vergleichbar. Das IR-Spektrum zeigt neben einer Nitrilbande eine Absorption im OH-Bereich. Im ¹H-NMR-Spektrum (Abb. 1) fehlt das Signal für die NH₂-Gruppe von **2a**, dagegen finden sich Signalpaare für alle Zuckerprotonen. Schließlich sind die Resonanzlinien für 8-H und 2-H des Adenins sowie für die Methylgruppen eines Isopropylidenrestes bei gleichbleibender Protonenzahl verdoppelt. Diese Multiplizität muß darauf beruhen, daß die isolierte Substanz in Lösung ein Gemisch stereoisomerer Verbindungen darstellt, die sich nicht nur in der (unbekannten) Konfiguration an C-2'' und C-5'' des Pyrrolidins, sondern auch in der Konformation um die C-6-N⁶-Bindung des Purins unterscheiden. Für diese Bindung ist eine hohe Rotationsbarriere zu erwarten, da unter Ausbildung von H-Brücken zwischen der 2''-OH-Gruppe und

N-1 oder N-7 des Purins zwei stabile Konformere **12a** bzw. **12b** vorliegen werden. (Vergleichbare H-Brücken sind in kristallisierten N^6 -substituierten Nucleosiden bekannt²⁴.) Erwartungsgemäß unterscheiden sich die chemischen Verschiebungen für 2-H (0.04 ppm) stärker als für 8-H (0.02 ppm), da 8-H bereits unter dem Einfluß der benachbarten polaren 5'-Cyanogruppe steht¹⁰.

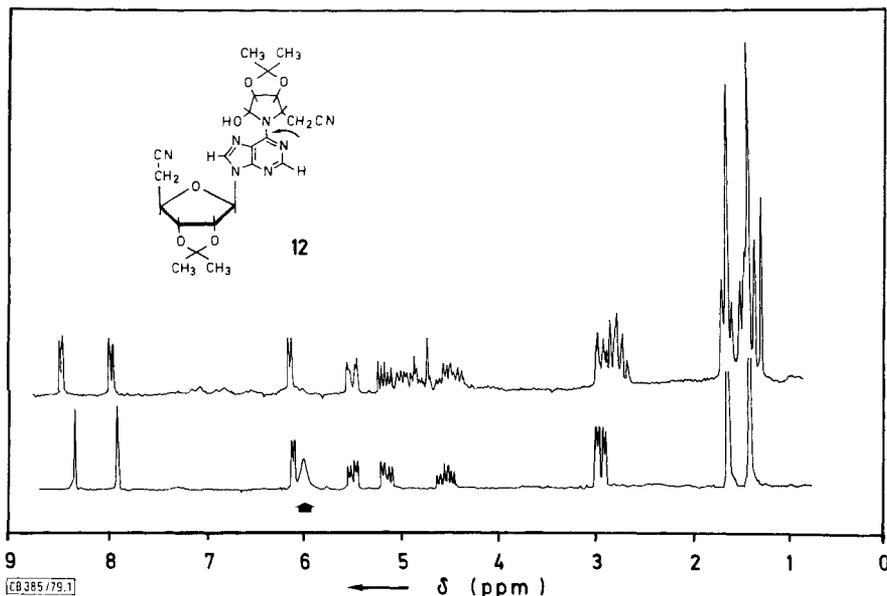


Abb. 1. ^1H -NMR-Spektrum von 5'-Desoxy-2',3'-*O*-isopropylidenadenosin-5'-carbonitril (**2a**) (unten) und seinem Kondensationsprodukt **12** (oben) in CDCl_3 (innerer Standard TMS). Die Formel zeigt das Konformere **12b**; **12a** entsteht durch Rotation um die mit Pfeil gekennzeichnete Bindung. Im Spektrum markiert: Signal der NH_2 -Gruppe in **2a**

Von den Eigenschaften der neuen Verbindungen haben wir die Strukturabhängigkeit von Circular dichroismus (Tab. 1) und charakteristischen Protonenresonanzsignalen analysiert und mit unseren früheren Zuordnungen zur Molekülkonformation^{5,6,25} verglichen. Die CD-Spektren der Adenosinanalogen **2a**, **3a**, **4a** und **6a** in neutraler wäßriger Lösung zeigen im langwelligen Bereich viel geringere, negative Cotton-Effekte ($[\theta] = -1200$ bis -700) als Adenosin selbst (Abb. 2), während der anionische Substituent der Carbonsäure **7a** mit dem Purinchromophor in stärkere Wechselwirkung tritt und eine Verstärkung dieser schwachen Bande bewirkt; das CD-Spektrum von **7a** stimmt mit dem der 5'-Desoxyadenosin-5'-essigsäure²⁵) praktisch überein, erreicht aber nicht die Elliptizität des AMP-Dianions ($[\theta] = -4000$). Da die chemische Verschiebung der 8- und 2-ständigen Adeninprotonen im ^1H -NMR-Spektrum von **3a** und **7a** die *anti*-Konformation belegt⁵), ordnen sich diese Cotton-Effekte zwanglos in die früher aufgestellte Klassifizierung ein, nach der in Adeninucleosiden mit stark polaren 5'-Substituenten in Nachbarschaft zur Purinbase sowohl negative, sehr geringe, als auch positive CD-Banden mit der *anti*-Stellung der Base zu vereinbaren sind. Vergleichbare Werte ($[\theta] = +700$ bis -1200) haben beispielsweise Adenosin-5'-nitrat, 5'-Desoxy-5'-azido- oder -5'-bromadenosin sowie Adenosin-5'-uronsäure-methylester.

Tab. 1. CD-Spektren von C-5'-substituierten Ribonucleosiden und Desoxyribonucleosiden

Substanz	C-5'- Substituent	λ_{\max} (nm) pH 7	Erste CD-Bande λ (nm)	$[\theta]$	λ (nm)	Zweite CD-Bande λ (nm)	$[\theta]$	Dritte CD-Bande λ (nm)	$[\theta]$
Adenosin	OH	259	262	-3000	225	1300	1300	198	-8800
2a	CN	258	270	-400	225	3600			
3a	CN	258	265	-700	225	900		195	2300
4a	CONH ₂	258	265	-1300	225	3000		208	8400
6a	CO ₂ CH ₃	258	265	-1200	235	900	215	205	4000
7a	CO ₂ ⁻	258	260	-2500			215	198	2600
Uridin	OH	262	267	9000	240	-4000		196	8000
2c	CN	260	262	4700	230	1200	210		
3c	CN	260	269	6800	238	-2500	216	197	3000
Uridin- 5'-nitrat	ONO ₂	260	270	7000	238	-3000	212	198	4000
Thymidin	OH	267	272	4000	242	-4000	215	197	16000
2d	CN	265	270	2000	245	-2500	215	194	5000
3d	CN	265	280	500	250	-2000	213	195	3500
6d	CO ₂ CH ₃	266	275	2800	243	-1200	215	195	10000
7d	CO ₂ ⁻	265	270	5700	237	-1400	215	200	4000

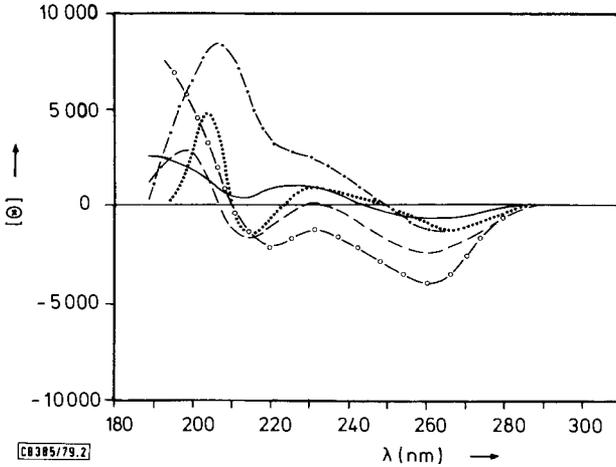


Abb. 2. CD-Spektren C-5'-substituierter Adenosine in Wasser: — 5'-Carbonitril (**3a**); - - - - 5'-Carboxamid (**4a**); ···· 5'-Methylester (**6a**); - - - 5'-Carbonsäure, Na-Salz (**7a**); zum Vergleich: - ○ - ○ AMP-Di-Na-Salz

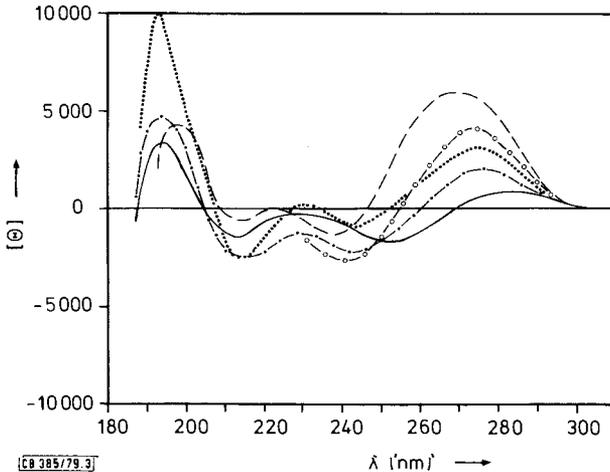


Abb. 3. CD-Spektren C-5'-substituierter Thymidine in Wasser: — 5'-Carbonitril (**3d**); - - - - 3'-O-Acetyl-5'-carbonitril (**2d**); ···· 5'-Methylester (**6d**); - - - 5'-Carbonsäure, Na-Salz (**7d**); zum Vergleich: - ○ - ○ Thymidin

In der durch positive langwellige Cotton-Effekte gekennzeichneten Pyrimidinreihe findet man ebenfalls gegenüber Uridin bzw. Thymidin reduzierte Elliptizitäten für **2c**, **3c**, **2d**, **3d** und **6d**, aber einen wegen der Anion-Chromophor-Wechselwirkung erhöhten Wert für die Carbonsäure **7d** (Abb. 3). Die 5'-Cyanthymidine **2d** und **3d** zeigen die schwächsten für den Thymin-Chromophor überhaupt bekannten CD-Banden²⁷⁾. Das CD-Spektrum des 5'-Cyanuridins **3c** ist deckungsgleich mit dem von Uridin-5'-nitrat²⁸⁾

und dokumentiert damit, daß nicht die individuelle Struktur von C-5'-Substituenten, sondern ihre Polarität für die Wechselwirkung mit einer benachbarten Pyrimidinbase verantwortlich ist.

5'-Desoxynucleosid-5'-carbonsäuren (**7**) sind den natürlichen Nucleosid-5'-monophosphaten in chemischen Eigenschaften und Moleküldimensionen sehr ähnlich; sie unterscheiden sich von ihnen vor allem im Fehlen der hydrolysierbaren Phosphoesterbindung, was für potentielle pharmakologische Eignung von Bedeutung ist. Es fällt auf, daß **7a** und **d** im Circular dichroismus wie in der chemischen Verschiebung (Abschirmung durch den gegenüberstehenden anionischen Substituenten) von 8-H der Adenin- bzw. 6-H der Thyminbase den Nucleotiden AMP bzw. dTMP näherstehen als den entsprechenden Nucleosid-5'-uronsäuren (Tab. 2). Ursache der ungewöhnlich verschiedenen Eigenschaften beider Gruppen von Carbonsäuren sind ihre unterschiedlich starren Molekülkonformationen: in den Uronsäuren liegt infolge der günstigen geometrischen Verhältnisse eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen Carboxylat-Ion und den schwach aciden Basenprotonen vor^{5,6}), während in den um ein C-Atom in der Kette verlängerten homologen Säuren **7** wie in den Nucleotiden lediglich Ion-Dipol-Wechselwirkungen herrschen und die Moleküle eine höhere Flexibilität im Bereich der *anti*-Konformation besitzen. Diese Unterschiede spiegeln sich eindeutig auch in den enzymatischen Aktivitäten der Carbonsäuren **7** wider, die gute Substrate bzw. Inhibitoren nucleotid-umsetzender Enzyme (Desaminasen, Kinasen und Nucleotidasen) sind, während Nucleosid-5'-uronsäuren i. allg. nur geringe oder keine biochemische Wirksamkeit haben. Über diese Verhältnisse wird an anderer Stelle berichtet²⁶).

Tab. 2. Vergleich des Circular dichroismus (Elliptizität $[\theta]$ der längstwelligen Bande) und der chemischen Verschiebung von Basenprotonen (D_2O , pD = 6) in Nucleotiden und Nucleosid-5'-carbonsäuren

Substanz	exocyclischer Substituent	$[\theta]$	δ 8-H (Adenin) (ppm)	δ 6-H (Thymin) (ppm)
7a	$CH_2CO_2^-$	-2500	8.31	
AMP	$CH_2OPO_3H^-$	-4000	8.47	
Adenosin-5'-uronat	CO_2^-	-6400	8.63	
7d	$CH_2CO_2^-$	5700		7.65
dTMP	$CH_2OPO_3H^-$	4000		7.78
Thymidin-5'-uronat	CO_2^-	2900		8.35

Wir danken dem *Fonds der Chemischen Industrie* für die Unterstützung dieser Arbeit und der Fa. *Pharma Waldhof*, Mannheim, für wertvolle Substanzproben.

Experimenteller Teil

Zur Registrierung von UV- und CD-Spektren dienten ein Cary 15-Spektralphotometer bzw. Jasco J20-Spektropolarimeter, für IR-Spektren das Gerät Beckman IR 18A. Felddesorptionsmassenspektren (FD-MS) wurden mit dem Varian 711-Massenspektrometer aufgenommen, ¹H-NMR-Spektren an einem Varian XL-100-Kernresonanzspektrometer in der Fourier-Transform-Technik; wenn nicht anders vermerkt, diente Natrium-[1,2-D₄]2-(trimethylsilyl)propionat als interner Standard. Zur Trockensäulenchromatographie wurde Kieselgel (Riedel-de Haen), zur präparativen Schichtchromatographie vorgefertigte Kieselgelplatten (200 × 200 × 2 mm, Merck)

verwendet. Dünnschichtchromatographie (DC) erfolgte auf Cellulose-Folien mit Fluoreszenzindikator (Merck) in n-Butanol/Wasser 86:14 (System A) oder auf Kieselgel (Riedel-de Haen) in Chloroform/Methanol 6:1 (System B). Die angegebenen Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die Struktur nicht kristallisierender und nicht durch Elementaranalysen charakterisierter Verbindungen ist durch spektroskopische Daten in Verbindung mit der jeweiligen Bildungsweise belegt.

5'-Desoxy-2',3'-isopropylidenadenosin-5'-carbonitril (2a): Zu einer Lösung von 3.5 g (7.6 mmol) 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosyladenosin (**1a**)²⁹, aus Essigester umkristallisiert und getrocknet, und 0.50 g 18-Krone-6 in 20 ml absol. Dioxan werden 1.5 g (23 mmol) getrocknetes KCN gegeben. Man rührt 20 h bei Raumtemp. und trennt vom Feststoff ab, der 3mal mit je 3 ml Dioxan gewaschen wird. Die vereinigten Dioxanlösungen werden erneut mit 1.5 g KCN und 0.50 g 18-Krone-6 versetzt und 20 h gerührt und diese Prozedur noch einmal wiederholt. Nach 60 h Gesamtreaktionsdauer entfernt man Dioxan i. Vak., nimmt den Rückstand in Essigester auf und chromatographiert auf einer Kieselgelsäule (5 × 20 cm) in Chloroform mit steigendem Methanolanteil (20:1 → 6:1). Nach einer kleinen Menge **1a** eluiert man 1.75 g **2a** (73 %). Schmp. 202–204 °C (aus Methanol). DC (B): $R_F = 0.54$.

IR (KBr): 2250 cm^{-1} (CN). – UV (Wasser): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$, $\lg \epsilon = 4.18$. – ¹H-NMR (CDCl_3): $\delta = 1.39, 1.61$ (2s, 3H, 3H, C(CH₃)₂), 2.96 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.56 (m, 1H, 4'-H), 5.14 (m, 1H, 3'-H), 5.50 (m, 1H, 2'-H), 5.98 (s, 2H, NH₂), 6.08 (d, $J_{1',2'} = 2.0 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 7.88 (s, 1H, 2-H), 8.33 (s, 1H, 8-H). FD-MS: $m/e = 316$ (100%, M⁺), 301 (8%, (M - CH₃)⁺), 182 (4%, (M - Adenin)⁺).

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_3$ (316.3) Ber. C 53.15 H 5.09 N 26.57 Gef. C 53.01 H 5.04 N 26.51

5'-Desoxyadenosin-5'-carbonitril (3a): 1.0 g (3.16 mmol) **2a** wird in 20 ml HCO₂H gelöst und mit 20 ml Wasser versetzt. Nach 6 Tagen bei Raumtemp. werden flüchtige Bestandteile bei 35 °C i. Vak. entfernt. Der Rückstand, aufgenommen in Wasser, wird gefriergetrocknet oder aus wenig Wasser kristallisiert. Ausb. 740 mg (85 %). Schmp. 175 °C (Zers.) (aus Wasser). DC (A): $R_F = 0.35$.

IR (KBr): 2250 cm^{-1} (CN). – UV (Wasser): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$, $\lg \epsilon = 4.20$. – ¹H-NMR (D_2O): $\delta = 3.16$ (d, 2H, 5'-CH₂), 4.68–4.74 (m, 2H, 3'-H, 4'-H), 4.86 (m, 1H, 2'-H), 6.07 (d, $J_{1',2'} = 5.4 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 8.19 (s, 1H, 2-H), 8.29 (s, 1H, 8-H). – FD-MS: $m/e = 276$ (100%, M⁺).

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_3$ (276.3) Ber. C 47.82 H 4.37 N 30.42 Gef. C 47.80 H 4.31 N 30.36

5'-Desoxyadenosin-5'-carboxamid (4a): 300 mg (1.10 mmol) **3a** werden in 10 ml Carbonatpuffer (0.05 M, pH 10) gelöst und mit 0.5 ml H₂O₂ (30proz.) versetzt. Nach 1 h bei 40 °C entfernt man alle flüchtigen Bestandteile i. Vak. und chromatographiert den Rückstand über eine Anionenaustauschersäule (1 × 20 cm, Dowex 1X2, Formiatform). Mit Wasser eluiert man **4a**, das nach Gefrier-trocknen rein anfällt (240 mg, 74 %). Durch Anlegen eines HCO₂H-Gradienten (0.001 M bis 0.05 M) eluiert man eine geringe Menge Adenin und dann 50 mg (16 %) **7a**. Schmp. von **4a**: 163–164 °C (aus Wasser). DC: $R_F = 0.12$ (A) bzw. 0.04 (B).

UV (Wasser): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$. – ¹H-NMR ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 4.08$ –4.33 (m, 2H, 3'-H, 4'-H), 4.65 (m, 1H, 2'-H), 5.89 (d, $J_{1',2'} = 4.5 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 6.89 (s, 2H, Amid-NH₂), 7.40 (s, 2H, Adenin-NH₂), 8.20 (s, 1H, 2-H), 8.37 (s, 1H, 8-H). – FD-MS: $m/e = 295$ (100%, (M + H)⁺), 294 (33%, M⁺).

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6$ (294.3) Ber. C 44.89 H 4.79 N 28.56 Gef. C 44.79 H 4.85 N 28.50

5'-Desoxyadenosin-5'-carbonsäure-methylester (6a): Man löst 1.3 g (4.0 mmol) nicht gereinigtes **2a** in 10 ml absol. Methanol, das bei –10 °C mit trockenem HCl gesättigt wurde und leitet bei –10 °C 30 min lang HCl durch die Lösung. Nach 15 h bei –20 °C entfernt man i. Vak. rasch alle flüchtigen Bestandteile. Die Lösung des Rückstandes in 10 ml kaltem Methanol versetzt man mit 10 ml Eiswasser und neutralisiert mit NaHCO₃. Nach 4 h bei Raumtemp. engt man zur Trockene

ein und extrahiert den Rückstand 3mal mit je 1 ml Ethanol. Chromatographie der Lösung auf Kieselgeldickschicht (3maliges Entwickeln in B) und Elution der intensivsten Bande bei $R_F \approx 0.6$ mit Methanol liefert **6a**, das in der Kälte amorph ausfällt, aber nicht kristallisiert (440 mg, 35 %). Aus der Bande bei $R_F \approx 0.35$ wird **3a** isoliert. DC: $R_F = 0.46$ (A), 0.45 (B).

IR (KBr): 1740 cm^{-1} (C=O). – UV (Wasser): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$. – $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 2.96$ (m, 2H, $5'\text{-CH}_2$), 3.70 (s, 3H, OCH_3), 4.15–4.85 (m, 3H, $4'\text{-H}$, $3'\text{-H}$, $2'\text{-H}$), 6.05 (d, $J_{1',2'} = 5.1 \text{ Hz}$, 1H, $1'\text{-H}$), 8.23 (s, 1H, 2-H), 8.27 (s, 1H, 8-H). – FD-MS: $m/e = 310$ (79 %, $(\text{M} + \text{H})^+$), 309 (100 %, M^+), 135 (34 %, Adenin $^+$).

5'-Desoxyadenosin-5'-carbonsäure-ethylester: Analog zur Darstellung von **6a** aus 160 mg (0.50 mmol) **2a** in 5 ml HCl-gesättigtem Ethanol. Nach Neutralisation mit NaHCO_3 und Einengen i. Vak. verteilt man zwischen Essigester und Wasser. Chromatographie der organischen Phase auf Kieselgeldickschicht (2maliges Entwickeln in B) führt zur Abtrennung von **3a** ($R_F \approx 0.3$) und unverändertem **2a** ($R_F \approx 0.8$) von einer kleinen Menge des Ethylesters ($R_F \approx 0.4$). Die Hauptmenge wird durch Extraktion der eingengten wäßrigen Phase mit absol. Ethanol (3mal 3 ml) isoliert. Gesamtausbe. 65 mg (40 %). Schmp. $178 - 180^\circ\text{C}$ (aus Methanol). DC (B): $R_F = 0.47$.

UV (Wasser): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$, $\lg \epsilon = 4.25$. – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 1.21$ (t, 3H, CH_2CH_3), 2.83 (m, 2H, $5'\text{-CH}_2$), 4.10 (q, 2H, CH_2CH_3), 4.27 (m, 2H, $4'\text{-H}$, $3'\text{-H}$), 4.76 (t, 1H, $2'\text{-H}$), 5.93 (d, $J_{1',2'} = 5.1 \text{ Hz}$, 1H, $1'\text{-H}$), 7.35 (s, 2H, NH_2), 8.22 (s, 1H, 2-H), 8.39 (s, 1H, 8-H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5$ (323.3) Ber. C 48.29 H 5.30 N 21.66 Gef. C 48.16 H 5.20 N 21.60

5'-Desoxyadenosin-5'-carbonsäure-isopropylester: Analog zur Darstellung von **6a** aus 160 mg (0.50 mmol) **2a** in 10 ml HCl-gesättigtem 2-Propanol. Nach Verteilung des mit NaHCO_3 neutralisierten Rückstandes zwischen Essigester und Wasser wird die organische Phase auf Kieselgeldickschicht chromatographiert (2maliges Entwickeln in B) und der Isopropylester aus der intensiven Bande bei $R_F \approx 0.35$ mit Methanol eluiert. Ausb. 35 mg (21 %). Die Substanz kristallisierte nicht. Weitere Banden enthalten die $2',3'$ -Isopropylidenverbindung des Isopropylesters ($R_F \approx 0.8$) sowie nicht umgesetztes **2a** ($R_F = 0.75$) und **3a** ($R_F = 0.3$). DC (B): $R_F = 0.47$.

UV (Wasser): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$, $\lg \epsilon = 4.25$. – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 1.19$ (m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.76 (m, 2H, $5'\text{-CH}_2$), 4.02–4.36 (m, 2H, $4'\text{-H}$, $3'\text{-H}$), 4.74 (t, 1H, $2'\text{-H}$), 4.91 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5.92 (d, $J_{1',2'} = 5.3 \text{ Hz}$, 1H, $1'\text{-H}$), 7.33 (s, 2H, NH_2), 8.20 (s, 1H, 2-H), 8.37 (s, 1H, 8-H). – FD-MS: $m/e = 338$ (60 %, $(\text{M} + \text{H})^+$), 337 (100 %, M^+), 135 (27 %, Adenin $^+$).

5'-Desoxyadenosin-5'-carbonsäure (7a): 410 mg (1.33 mmol) **6a** in 5 ml Methanol werden mit 5 ml 0.1N NaOH versetzt. Nach 8 und 16 h werden nochmals je 5 ml NaOH zugefügt. Die Verseifung ist nach 25 h bei Raumtemp. vollständig. Die alkalische Lösung wird auf eine Anionenaustauschersäule ($1.5 \times 20 \text{ cm}$, Dowex 1X2, Formiatform) aufgetragen und **7a** mit Ameisensäure steigender Konzentration (0.001M bis 0.1M) als einheitliche Fraktion isoliert. Ausfällen durch HCO_2H oder Gefriertrocknung liefern 330 mg (85 %) Substanz. Schmp. $175 - 176^\circ\text{C}$ (aus Wasser). DC: keine Wanderung ($R_F = 0$) in A oder B.

UV (Wasser, pH 7): $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$, $\lg \epsilon = 4.19$. – $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 2.69$ (m, 2H, $5'\text{-CH}_2$), 4.26 (m, 1H, $4'\text{-H}$), 4.48 (m, 1H, $3'\text{-H}$), 4.72 (m, 1H, $2'\text{-H}$), 6.02 (d, $J_{1',2'} = 5.3 \text{ Hz}$, 1H, $1'\text{-H}$), 8.19 (s, 1H, 2-H), 8.31 (s, 1H, 8-H). – FD-MS: $m/e = 296$ (100 %, $(\text{M} + \text{H})^+$), 295 (5 %, M^+), 251 (4 %, $(\text{M} - \text{CO}_2)^+$), 135 (4 %, Adenin $^+$).

$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5$ (295.3) Ber. C 44.75 H 4.44 N 23.84 Gef. C 44.57 H 4.52 N 23.68

5'-Desoxyinosin-5'-carbonitril (3b): 100 mg (0.36 mmol) **3a**, in 10 ml Wasser gelöst, werden mit 1 ml Eisessig, 0.5 ml 2N HCl und 500 mg (7.2 mmol) NaNO_2 versetzt und 3 Tage bei Raumtemp. aufbewahrt. Man filtriert durch wenig Dowex 1X2 (Formiatform, $1 \times 2 \text{ cm}$), wäscht mit 10 ml Wasser und engt Eluat und Waschflüssigkeit i. Vak. zur Trockene ein. Nach Aufnehmen in wenig Wasser wird neutralisiert und auf Cellulose chromatographiert (dreimaliges Entwickeln in

A). Elution der intensiven Bande bei $R_F \approx 0.1$ mit Wasser ergibt reines **3b** (30 mg, 30%). Nicht umgesetztes **3a** kann aus der Bande bei $R_F \approx 0.25$ zurückgewonnen werden. DC (B): $R_F = 0.11$.

UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 254$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 3.08$ (m, 2H, 5'-CH₂), 4.37–4.95 (m, 3H, 4'-H, 3'-H, 2'-H), 5.93 (d, $J_{1',2'} = 5.3$ Hz, 1H, 1'-H), 8.10 (s, 1H, 2-H), 8.28 (s, 1H, 8-H).

5'-Desoxyinosin-5'-carboxamid (**4b**): Analog zur Darstellung von **3b** aus 100 mg (0.34 mmol) **4a**. Elution der unteren Bande ($R_F \approx 0.1$, in A) mit Wasser ergibt 22 mg (22%) reines **4b**, die obere Bande ($R_F \approx 0.15$) enthält unverändertes **4a**. DC (A): $R_F = 0.06$.

UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 253$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 2.84$ (m, 2H, 5'-CH₂), 4.29–4.55 (m, 3H, 4'-H, 3'-H, 2'-H), 6.09 (d, $J_{1',2'} = 5.2$ Hz, 1H, 1'-H), 8.27 (s, 1H, 2-H), 8.48 (s, 1H, 8-H).

5'-Desoxyinosin-5'-carbonsäure-methylester (**6b**): Analog zur Darstellung von **3b** aus 100 mg (0.32 mmol) **6a**. Elution der intensiven Bande mit $R_F \approx 0.15$ ergibt 32 mg (32%) reines **6b**, die Bande mit $R_F \approx 0.30$ enthält unverändertes **6a**. DC (B): $R_F = 0.11$.

UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 254$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 2.96$ (m, 2H, 5'-CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.29–4.55 (m, 3H, 4'-H, 3'-H, 2'-H), 6.09 (d, $J_{1',2'} = 5.4$ Hz, 1H, 1'-H), 8.27 (s, 1H, 2-H), 8.48 (s, 1H, 8-H).

5'-Desoxyinosin-5'-carbonsäure (**7b**): Analog zur Darstellung von **3b** aus 100 mg (0.35 mmol) **7a**. Nach Filtrieren des sauren Reaktionsgemisches durch Dowex 1X2 (Formiatform) wird die Lösung neutralisiert und erneut auf eine Säule mit Dowex 1X2 (Formiatform, 0.5 × 10 cm) aufgetragen. Elution mit Ameisensäure steigender Konzentration (0.001 M bis 0.2 M) ergibt unverändertes **7a** und danach eine einheitliche Fraktion **7b** (40 mg, 40%). **7b** kann auch aus **6b** durch Verseifung analog **6a** → **7a** erhalten werden. DC: keine Wanderung ($R_F = 0$) in A oder B.

UV (Wasser, pH 7): $\lambda_{\max} = 253$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 2.70$ (m, 2H, 5'-CH₂), 4.45–4.78 (m, 3H, 4'-H, 3'-H, 2'-H), 6.11 (d, $J_{1',2'} = 5.2$ Hz, 1H, 1'-H), 8.16 (s, 1H, 2-H), 8.41 (s, 1H, 8-H).

5'-Desoxy-2',3'-O-isopropylidenuridin-5'-carbonitril (**2c**): 133 mg (0.50 mmol) salzfreies, trockenes **8** (s. u.) und 50 mg (0.20 mmol) 18-Krone-6 werden in 5 ml absol. Dioxan gelöst, mit 65 mg (1 mmol) trockenem KCN versetzt und 20 h bei Raumtemp. gerührt. Dann trennt man feste Bestandteile ab und chromatographiert die eingeeengte Lösung auf der Kieselgeldickschicht in B. Elution der intensivsten Bande mit Methanol ergibt 71 mg (48%) reines **2c**. Schmp. 242–244°C (aus Methanol). DC (B): $R_F = 0.48$.

IR (KBr): 2240 cm^{-1} (CN). — UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 260$ nm. — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 1.35$ (s, 3H, *exo*-CH₃), 1.54 (s, 3H, *endo*-CH₃), 3.11 (d, 2H, 5'-CH₂), 4.75 (m, 1H, 4'-H), 4.81 (m, 1H, 3'-H), 5.16 (m, 1H, 2'-H), 5.81 (d, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, 1H, 1'-H), 5.64 (d, $J_{5,6} = 7.7$ Hz, 5-H), 7.71 (d, 1H, 6-H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5$ (293.3) Ber. C 53.23 H 5.16 N 14.33 Gef. C 53.11 H 5.21 N 14.28

5'-Desoxyuridin-5'-carbonitril (**3c**): Analog der Darstellung von **3a** aus 100 mg (0.35 mmol) **2c** in 10 ml 50proz. Ameisensäure. Nach Einengen i. Vak. bleibt reines **3c** zurück, das aus wenig Wasser oder Methanol amorph ausfällt. Ausb. 80 mg (89%). DC (B): 0.11.

IR (KBr): 2240 cm^{-1} (CN). — UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 260$ nm. FD-MS: $m/e = 253$ (100%, M^+).

3'-O-Acetyl-5'-desoxythymidin-5'-carbonitril (**2d**): 3'-O-Acetyl-5'-O-tosylthymidin (**1d**) wurde aus 3'-O-Acetylthymidin³⁰) analog der Adenosinverbindung **1a**²⁹) hergestellt. Zu einer Lösung von 440 mg (1 mmol) trockenem **1d** in 20 ml absol. Dioxan gibt man 650 mg (10 mmol) getrocknetes KCN und 150 mg (0.57 mmol) 18-Krone-6. Nach 48 h Rühren bei Raumtemp. trennt man feste Bestandteile ab und chromatographiert die eingeeengte Lösung auf der Kieselgeldickschicht

(3maliges Entwickeln in B). Aus dem Methanol-Eluat der intensivsten Bande erhält man 140 mg (48 %) reines **2d**, das nicht kristallisiert. DC (A): $R_F = 0.77$; (B): $R_F = 0.53$.

UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 265$ nm. – IR (KBr): 2240 cm^{-1} (CN). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): $\delta = 1.85$ (d, 3H, 5- CH_3), 2.12 (s, 3H, Acetyl- CH_3), 2.39 (m, 2H, 2'- CH_2), 3.11 (d, 2H, 5'- CH_2), 4.23 (m, 1H, 4'-H), 5.18 (m, 1H, 3'-H), 6.24 (t, 1H, 1'-H), 7.60 (d, 1H, 6-H). – FD-MS: $m/e = 293$ (100 %, M^+).

5'-Desoxythymidin-5'-carbonitril (**3d**): 100 mg (0.34 mmol) **2d** löst man in 10 ml absol. Methanol, kühlt auf 0°C und versetzt mit 0.5 ml mit HCl gesättigtem absol. Methanol. Nach 12 h im Eisbad entfernt man i. Vak. rasch alles Flüchtige und nimmt den Rückstand in wenig 50proz. Methanol auf. Nach Filtrieren über Dowex 1X2 (Formiatform, 0.5×3 cm) und Einengen fällt aus Methanol reines **3d** aus (65 mg, 76 %). Schmp. $227 - 230^\circ\text{C}$ (Zers.). DC (A): $R_F = 0.62$; (B): $R_F = 0.19$.

IR (KBr): 2240 (CN), 3350 cm^{-1} (OH). UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 265$ nm. – $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 1.91$ (d, 3H, 5- CH_3), 2.48 (m, 2H, 2'- CH_2), 3.02 (m, 2H, 5'- CH_2), 4.18 (m, 1H, 4'-H), 4.48 (m, 1H, 3'-H), 6.28 (t, 1H, 1'-H), 7.45 (d, 1H, 6-H). – FD-MS: $m/e = 251$ (100 %, M^+).

$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ (251.4) Ber. C 52.56 H 5.21 N 16.71 Gef. C 52.48 H 6.28 N 16.65

5'-Desoxythymidin-5'-carbonsäure-methylester (**6d**): Zu 5 ml absol. Methanol, bei -10°C mit trockenem HCl gesättigt, gibt man eine Suspension von 100 mg (0.25 mmol) **2d** in 2 ml Methanol. Man leitet weitere 20 min HCl ein und bewahrt dann 24 h bei -20°C auf. Aus der Mischung wird bei 30°C Badtemp. rasch alles Flüchtige i. Vak. entfernt und der Rückstand in 50proz. Methanol aufgenommen. Nach Filtrieren über Dowex 1X2 (Formiatform, 0.5×2 cm) und Nachwaschen mit 50proz. Methanol (3mal 10 ml) werden die vereinigten Lösungen eingengt und auf der Kieselgeldickschicht (2maliges Entwickeln in B) aufgetrennt. Elution der intensiven weitlaufenden Bande ergibt reines **6d** (28 mg, 39 %), aus der unteren Bande wird **3d** unverändert zurückgewonnen. **6d** kristallisiert nicht. DC (A): $R_F = 0.72$; (B): $R_F = 0.40$.

IR (KBr): 1740 cm^{-1} (CO). – UV (Wasser): $\lambda_{\max} = 266$ nm. – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_7]$ DMF): $\delta = 1.84$ (d, 3H, 5- CH_3), 2.30 (m, 2H, 2'- CH_2), 2.82 (m, 2H, 5'- CH_2), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 4.02–4.45 (m, 2H, 3'-H, 4'-H), 6.30 (t, 1H, 1'-H), 7.58 (d, 1H, 6-H). – FD-MS: $m/e = 284$ (100 %, M^+), 159 (3 % ($\text{M} - \text{Thymin}$) $^+$).

5'-Desoxythymidin-5'-carbonsäure (**7d**): Analog der Darstellung von **7a** durch alkalische Verseifung des Methylesters **6d** und Chromatographie an Dowex 1X2 (Formiatform, Elution mit 0.1 M HCO_2H). Reines **7d** wird durch Gefriertrocknung isoliert (Ausb. 85 %). Zur Elementaranalyse ist 2tägiges Trocknen bei 60°C i. Vak. erforderlich. DC: keine Wanderung ($R_F = 0$) in A oder B.

UV (Wasser, pH 7): $\lambda_{\max} = 265$ nm. – $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 1.92$ (d, 3H, 5- CH_3), 2.42 (m, 2H, 2'- CH_2), 3.83 (m, 2H, 5'- CH_2), 4.01 (m, 1H, 4'-H), 4.45 (m, 1H, 3'-H), 6.29 (t, 1H, 1'-H), 7.65 (d, 1H, 6-H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$ (270.2) Ber. C 48.89 H 5.22 N 10.37 Gef. C 48.77 H 5.32 N 10.30

2',3'-O-Isopropyliden- O^2 ,5'-cyclouridin (**8**): *2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-tosyluridin* (**1c**) wurde in Anlehnung an Lit.²⁹⁾ synthetisiert. 440 mg (1.0 mmol) **1c** und 130 mg (0.50 mmol) 18-Krone-6 werden in 10 ml absol. Dioxan gelöst und mit 350 ml (5.4 mmol) trockenem KCN bei 30°C heftig gerührt. Nach 10 h trennt man Feststoffe ab, wäscht 2mal mit je 3 ml Dioxan und engt die vereinigten Lösungen i. Vak. ein. Das zurückbleibende braune Öl, in dem Festsubstanz suspendiert ist, wird 3mal mit je 3 ml Essigester extrahiert. Der farblose Rückstand (150 mg, 56 %) ist reines **8**. Der Essigesterextrakt wird über eine Kieselgelsäule (1×1 cm) filtriert. Man wäscht mit 15 ml Aceton/Methanol (6:1) und erhält aus dem eingengten Eluat in der Kälte weitere 40 mg (15 %) **8**. Die Mutterlauge enthält wenig **2c** (5 %). **8** stimmt in Schmp. ($>230^\circ\text{C}$, Zers.), chromatographischem Verhalten und spektroskopischen Daten mit Literaturangaben^{17,31)} überein.

Wird die Reaktion in konzentrierterer Lösung (440 mg **1c** in 5 ml Dioxan) und bei 20°C ausgeführt, so ist nach 40h das Produktverhältnis zugunsten des Nitrils **2c** verschoben (25%, Schmp. 242–244°C).

3'-O-Acetyl-O²,5'-cyclothymidin (**9**): Zur Lösung von 0.88 g **1d**^{16,30} (2.0 mmol) und 0.26 g (1.0 mmol) 18-Krone-6 in 20 ml absol. Dioxan gibt man 0.52 g (8.0 mmol) trockenes KCN und erhitzt 45 min zum Rückfluß; danach rührt man noch 1 h bei Raumtemp. Dioxan wird i. Vak. entfernt und der Rückstand 3mal mit je 10 ml Aceton extrahiert. Die Acetonlösung enthält außer Kaliumtosylat nur geringe Mengen **1d**, **2d** und **9** und wird verworfen. Extraktion des Rückstandes mit siedendem Chloroform ergibt nach dem Einengen 0.28 g (53%) **9**. Schmp. >252°C (Zers.) und UV-Spektrum (λ_{\max} = 248 nm (Wasser)) stimmen mit beschriebenen Daten¹⁶⁾ überein. DC (B): R_F = 0.25.

IR (KBr): 1650 (CO), 1730 cm⁻¹ (CO). – ¹H-NMR (D₆IDMSO): δ = 1.85 (d, 3H, 5-CH₃), 2.11 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 2.65 (m, 2H, 2'-CH₂), 4.10–4.55 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.67 (s, 1H, 4'-H), 5.44 (m, 1H, 3'-H), 6.11 (m, 1H, 1'-H), 7.86 (d, 1H, 6-H).

6-(5''-Cyanmethyl-2''-hydroxy-3'',4''-isopropylidendioxyppyrolidin-1''-yl)-6-desamino-2',3'-isopropylidenadenosin-5'-carbonitril (**12**): 200 mg (0.63 mmol) **2a** werden unter Erwärmen in 2 ml Aceton gelöst. Nach Abkühlen setzt man 20 μ l 50proz. Kalilauge (0.20 μ mol) zu und rührt 24h bei Raumtemp. Nach Abtrennung von ausgefallenem Adenin chromatographiert man auf der Kieselgeldickschicht in B. Elution der intensiven Bande bei R_F \approx 0.8 mit Chloroform/Methanol (1:1) und Entfernen der Lösungsmittel i. Vak. hinterläßt **12** als farblosen, aufgeblähten Rückstand (50 mg, 30%). Die Substanz kristallisierte nicht. DC (B): R_F = 0.80.

IR (KBr): 2250 (CN), 3420 cm⁻¹ (OH). – UV (Wasser): λ_{\max} = 266 (pH 1), 264 (pH 7), 272 nm (pH 12). – ¹H-NMR (CDCl₃): vgl. Abb. 1. δ = 1.39, 1.62 (2s, 6H, 2',3'-C(CH₃)₂), 1.25, 1.32, 1.47, 1.67 (4s, 3'',4''-C(CH₃)₂ in **12a** bzw. **12b**), 2.80, 2.95 (2m, 4H, 5''-CH₂ und 5'-CH₂), 4.4, 4.6 (2m, 2H, 5''-H und 4'-H), 4.7–5.1 (m, 3H, 2''-H, 3''-H, 4''-H), 5.15 (m, 1H, 3'-H), 5.50 (m, 1H, 2'-H), 6.08 (d, $J_{1',2'}$ = 2.0 Hz, 1H, 1'-H), 7.91, 7.95 (2s, 1H, 2-H), 8.44, 8.46 (2s, 1H, 8-H). Die Zuordnungen basieren auf dem ¹H-NMR-Spektrum von **2a** (s. o.) mit gleichen δ -Werten für 2',3'-C(CH₃)₂, 5'-CH₂, und 4'-H, 3'-H, 2'-H, 1'-H. – FD-MS: 497 (100%, M⁺).

Literatur

- 1) A. Hampton, P. Howgate, P. J. Harper, F. Perini, F. Kappler und R. K. Preston, *Biochemistry* **12**, 3328 (1973).
- 2) A. Hampton, T. Sasaki und B. Paul, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 4404 (1973).
- 3) J. J. Baker, P. Mellish, C. Riddle, A. R. Somerville und J. R. Tittensor, *J. Med. Chem.* **17**, 764 (1974).
- 4) A. Hampton, T. Sasaki, F. Perini, L. A. Slotin und F. Kappler, *J. Med. Chem.* **19**, 1029 (1976).
- 5) H. Follmann und G. Gremels, *Eur. J. Biochem.* **47**, 187 (1974).
- 6) H. Follmann, R. Pfeil und H. Witzel, *Eur. J. Biochem.* **77**, 451 (1977).
- 7) R. N. Prasad, A. Fung, K. Tietje, H. H. Stein und H. D. Brondyk, *J. Med. Chem.* **19**, 1180 (1976).
- 8) K. Turnheim, B. Plank und N. Kolassa, *Biochem. Pharmacol.* **27**, 2191 (1978).
- 9) H. Follmann, *Angew. Chem.* **86**, 41 (1974); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **13**, 77 (1974).
- 10) H. Follmann in *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Molecular Biology* (B. Pullman, Herausg.) S. 323, D. Reidel Publ., Dordrecht 1978.
- 11) G. Etzold, G. Kowolik und P. Langen, *Chem. Commun.* **1968**, 422.
- 12) P. Howgate, A. S. Jones und J. R. Tittensor, *Carbohydr. Res.* **12**, 403 (1970).
- 13) T. E. Walker, H. Follmann und H. P. C. Hogenkamp, *Carbohydr. Res.* **27**, 225 (1973).
- 14) W. Meyer, E. Böhnke und H. Follmann, *Angew. Chem.* **88**, 512 (1976); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **15**, 499 (1976).

- 15) F. L. Cook, C. W. Bowers und C. L. Liotta, *J. Org. Chem.* **39**, 3416 (1974).
- 16) A. M. Michelson und A. R. Todd, *J. Chem. Soc.* **1955**, 816.
- 17) D. M. Brown, A. R. Todd und S. Varadarajan, *J. Chem. Soc.* **1957**, 868.
- 18) R. Mengel und W. Guschlbauer, *Angew. Chem.* **90**, 557 (1978); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **17**, 525 (1978).
- 19) H. Follmann, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 397.
- 20) W. Jahn, *Chem. Ber.* **98**, 1705 (1965).
- 21) R. R. Schmidt und H. J. Fritz, *Chem. Ber.* **103**, 1867 (1970).
- 22) G. V. Kryshstal, L. A. Yanovskaya und V. F. Kucherov, *Tetrahedron* **29**, 2053 (1973).
- 23) R. T. Borchardt, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 458 (1979).
- 24) R. Parthasarathy, M. Soriano-Garcia und G. B. Chedda, *Nature (London)* **260**, 807 (1976).
- 25) H. Follmann, I. Kuntz und W. Zacharias, *Eur. J. Biochem.* **58**, 31 (1975).
- 26) W. Meyer und H. Follmann, *Z. Naturforsch. Teil C*, **35**, im Druck (1980).
- 27) D. W. Miles, W. H. Inskip, M. J. Robins, M. W. Winkley, R. K. Robins und H. Eyring, *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 3872 (1970).
- 28) F. W. Lichtenthaler und H. J. Müller, *Angew. Chem.* **85**, 765 (1973); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **12**, 752 (1973).
- 29) R. Kuhn und W. Jahn, *Chem. Ber.* **98**, 1699 (1965).
- 30) J. P. H. Verheyden und J. G. Moffatt, in *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry* (W. Zorbach und R. Tipson, Herausg.), Bd. 1, S. 386, Interscience Publ., John Wiley, New York.
- 31) J. P. Verheyden und J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **35**, 2319 (1970).

[385/79]