

N-Ethylcarboxamide von *lyxo*-Purinnucleosiden

Peter Fischer*^a, Gabriele R. Lösch und Richard R. Schmidt*^b

Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung,
Universität Stuttgart^a, Pfaffenwaldring 55, D-7000 Stuttgart 80, und
Fakultät für Chemie, Universität Konstanz, D-7750 Konstanz^b

Eingegangen am 6. Februar 1981

Aus 2,3-*O*-Isopropylidenlyxuronsäure-methylester (**1a**) wurde das 1 α -Chlor-1-desoxy-*N*-ethyl-2,3-*O*-isopropylidenlyxonamid (**2d**) hergestellt. Schmelzkondensation mit silyliertem 6-Chlor- und 2,6-Dichlorpurin (**4a, b**) lieferte im wesentlichen die *N*-9-verknüpften α - und β -konfigurierten *N*-Ethyl-*lyxo*-purinnucleosidcarboxamide **5a, b** und **6a, b**. Die Struktur der erhaltenen Nucleoside wurde ¹H- und ¹³C-NMR-spektroskopisch gesichert.

N-Ethyl *lyxo* Purine Nucleoside Carboxamides

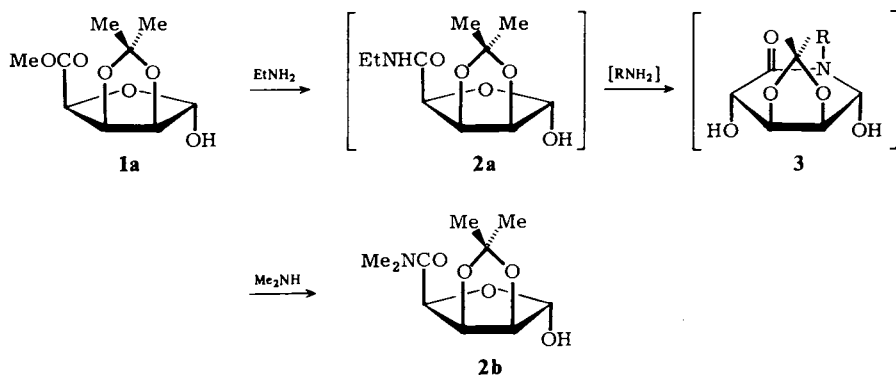
Methyl-2,3-*O*-isopropylidene lyxonate (**1a**) was transformed into 1 α -chloro-1-desoxy-*N*-ethyl-2,3-*O*-isopropylidene lyxonamide (**2d**). Direct molten state condensation of **2d** with silylated 6-chloro- and 2,6-dichloropurine (**4a, b**) yields mainly *N*-ethyl-*N*-9-purinyl nucleoside carboxamides with α - and β -configuration (**5a, b** and **6a, b**). The structure of these compounds was established from ¹H- and ¹³C-NMR data.

Purinylyxuronsäure-Derivate sind aufgrund der maximalen Oxidationsstufe von C-5' gegen enzymatischen Abbau sehr viel beständiger als andere bzw. nicht 5'-geschützte Nucleoside¹⁾ und zeigen daher im Vergleich zu natürlich vorkommenden Nucleosiden wie etwa Adenin eine charakteristische therapeutische Langzeitwirkung^{1,2)}. Zur Darstellung von Uronsäurenucleosiden wurde bislang zwar ein breites Spektrum von Aglyconbausteinen eingesetzt²⁻⁶⁾, dabei aber hauptsächlich die Riburonsäure als Furanosylkomponente herangezogen. Für eine weitergehende Variation auch des Glycosidbausteins bietet sich die D-Lyxose als sterisch modifiziertes Analogon zur natürlichen D-Ribose an; im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen *gluco*-, *arabino*- oder *xyl*-Nucleosiden⁷⁾ sind hier 2- und 3-Hydroxylgruppe ebenfalls *cis*-ständig.

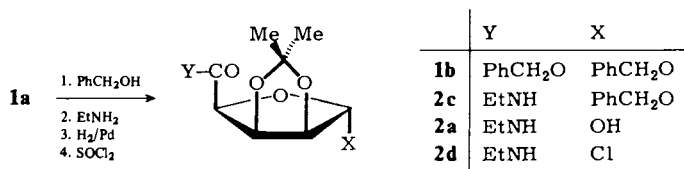
Uronsäurederivate von Purinbasen erhält man im allgemeinen durch Kondensation der – jeweils fertig funktionalisierten und aktivierten – Bausteine Aglycon und Zucker⁸⁾. Im 2,3-*O*-Isopropyliden-D-lyxuronsäure-methylester (**1a**), der in wenigen Stufen aus einem einfachen Mannosederivat zugänglich ist⁹⁾, steht eine geeignete glycosidische Ausgangskomponente zur Verfügung. Mit dem entsprechenden 1-Chlorderivat haben wir bereits einige C–N-Knüpfungen zu Purinyl-lyxuronestern durchgeführt⁸⁾. Wir haben nun versucht, **1a** in das *N*-Ethylamid **2a** zu überführen und daraus durch Kondensation neue, pharmakologisch interessante Uronsäure-Nucleosidderivate zu gewinnen.

Ergebnisse

Alle Versuche, *N*-Alkyllyxuronamide **2** durch direkte Umsetzung von **1a** mit primären Aminen darzustellen, schlugen unter den unterschiedlichsten Reaktionsbedingungen fehl; nach ¹H-NMR-Spektren und Dünnschichtchromatogrammen enthielt das Reaktionsgemisch jeweils neben geringen Anteilen der gesuchten Amide eine Vielzahl weiterer Produkte. Eine Abtrennung gelang nicht, die säulenchromatographische Aufarbeitung führte zu vollständiger Zersetzung. Wir vermuten, daß bei der Umsetzung bzw. Aufarbeitung zumindest teilweise Ringerweiterung zum – thermodynamisch stabileren – Lactam **3** erfolgt, wie dies für die Reaktion von Riburonamiden mit NH₃ oder Hydrazin bekannt ist¹⁰. Bei der Umsetzung von **1a** mit Dimethylamin nämlich, wo eine solche Folgereaktion nicht mehr möglich ist, fällt das Lyxuronamid **2b** (α -Konfiguration) in NMR-spektroskopisch nahezu reiner Form an (Ausb. > 90%).

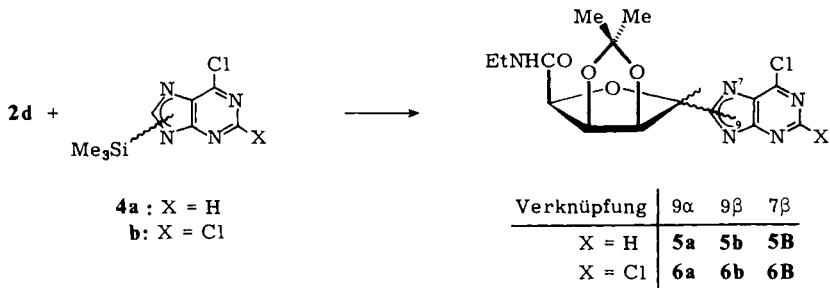


Zur erforderlichen Blockierung der 1-OH-Funktion vor dem Austausch der Ester- gegen die Amidfunktion haben wir **1a** mit Benzylalkohol umgesetzt. Da die Reaktion aber auch bei großem Alkoholüberschuß nur bis zu einem Gleichgewicht läuft, wird abgebrochen, das Rohprodukt abgetrennt und erneut mit Benzylalkohol umgesetzt. Die anschließende Reaktion der Dibenzylverbindung **1b** zum Amid **2c** (jeweils α -Konfiguration) verläuft glatt und in hoher Ausbeute. Auf dieser Stufe muß allerdings säulenchromatographisch vom Benzylalkohol abgetrennt werden, da selbst geringe Mengen von Benzylalkohol im Substrat dessen Löslichkeit verändern und vor allem die Hydrierung zu **2a** nahezu vollständig verhindern; nur bei kleinen Ansätzen gelingt es, **2a** durch einfache Trocknung im Hochvakuum und Umkristallisation rein zu erhalten.



Das 1 α -Chlorderivat **2d**, das bei der Umsetzung von **2a** mit Thionylchlorid bereits als Rohprodukt kristallin anfällt, ist jedoch recht empfindlich und läßt sich im Gegen-

satz zum Riburonanalogen nicht unzersetzt destillieren. **2d** wird daher nach der NMR-spektroskopischen Charakterisierung ohne weitere Reinigung sofort mit Trimethylsilyl-6-chlor- und -2,6-dichlorpurin (**4a, b**) umgesetzt. Kondensation, Aufarbeitung und säulenchromatographische Feintrennung erfolgen wie beschrieben^{2,8)}.



Die Ausbeuten an rein isolierten Lyxuronamid-Nucleosiden **5** bzw. **6** (Tab. 1) liegen deutlich unter denen für die entsprechenden Lyxuronester-Derivate⁸⁾, sind aber mit denen für die Kondensationen aktivierter Riburonamide vergleichbar. Die drastisch reduzierte Gesamtausbeute bei den 6-Chlorpurinyl- im Vergleich zu den 2,6-Dichlorpurinyl-nucleosiden muß dem Aglycon zugeschrieben werden, da die Umsetzungen mit Riburonsäure-Derivaten denselben Befund ergeben hatten⁸⁾.

Das Verhältnis der *N*-9-verknüpften Anomeren (9 α /9 β) ist bei den Lyxuronamiden wie bei den entsprechenden Estern – aus sterischen Gründen nicht unerwartet – deutlich zum 9 α -Derivat hin verschoben (2:1). Dagegen haben wir für beide Verbindungsklassen selbst bei der chromatographischen Aufarbeitung keine Spur von α -Nucleosiden mit *N*-7-Purinverknüpfung gefunden. 7 β -Nucleoside, die bei den Lyxuronestern noch zu 5–15% am Produktgemisch beteiligt waren⁸⁾, ließen sich bei den Amidkondensationen auch nur in Mengen unter 1% isolieren (Tab. 1).

Tab. 1. Verknüpfungsisomere Purinnucleoside durch Umsetzung von aktiviertem Lyxuronsäureamid **2d** mit (*N*-7/9-)silylierten Purinen **4a, b** in der Schmelze (Methode A⁸⁾)

Umsetzung Nr.	Reaktanden	Gesamt- Nucleosid- Ausb. (%) ^{a)}	isolierte Nucleoside ^{a)} (%-Anteil an Gesamtausb.)			
			<i>N</i> -9 α	Verknüpfung <i>N</i> -9 β	<i>N</i> -7 β	Andere Nucleoside ^{b)}
1	2d + 4a	24.3	5a (45)	5b (24)	5B (Spur)	DPN + Nucl. (31)
2	2d + 4b	58.8	6a (62)	6b (25)	6B (1)	DPN (12), Nucl. (Spur)

a) Die Ausbeuten sind auf nicht zurückgewonnene Zuckerkomponente bezogen. Die Wägung der erhaltenen Nucleoside erfolgte erst nach der Feintrennung durch Mitteldruckchromatographie, so daß (geringe) Verluste durch Schneiden von ungenügend aufgetrennten Fraktionen unberücksichtigt bleiben. Die Prozentangaben für die einzelnen Verknüpfungsisomeren stellen daher isolierte Reinausbeuten dar. – b) Neben den exakt charakterisierten *N*-9 α / β - und *N*-7 β -Nucleosiden wurden weitere Nucleoside erhalten, in denen ein Cl-Substituent des direkt mit dem Zucker verknüpften Purinrings durch einen zweiten Purinrest substituiert ist und die daher als Dipurinylnucleoside (DPN) bezeichnet werden. Weitere bei der chromatographischen Trennung isolierte Nucleoside, die nicht identifiziert werden konnten, sind in der Aufstellung mit Nucl. bezeichnet.

Tab. 2. NMR-Daten der 9 α -, 9 β - und 7 β -verknüpften 6-Chlor- und 2,6-Dichlorpurinyl-Nucleoside von 2,3-O-Isopropyliden-N-ethyl-D-lyxofuranuronamid
 a) ^{13}C -NMR (in CDCl_3 , 30 °C), δ_{TMS} [ppm]

	5a	5b	6a	6b	6B
C-2	152.39	152.29	153.38	153.28	
C-4	150.93	151.45*	152.32*	152.90	
C-5	132.26	131.23	131.29	130.42	
C-6	151.96	151.62*	152.42*	152.06	
C-8	144.77	144.90	145.51	145.51	
C-1'	91.04	83.32	90.83	83.64	
C-2'	84.79	78.18	84.64	78.54	
C-3'	81.98	80.50	81.75	80.46	
C-4'	84.02	79.15	83.96	79.28	
C-5' (C=O)	165.94	165.13	165.84	165.20	
N-CH ₂ -CH ₃	33.82	34.03	33.87	34.03	
	14.92	14.93	14.90	14.99	
$\text{>C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{array}$	113.90	114.18	114.05	114.24	
CH ₃ ^{endo}	26.20	25.59	26.20	25.53	
CH ₃ ^{exo}	24.40	23.98	24.50	23.98	

 b) ^1H -NMR (0.1 M in CDCl_3 , 30 °C), δ_{TMS} [ppm], J [Hz]^a)

2-H	8.76	8.76	(Cl)	(Cl)	(Cl)
8-H	8.18	8.56	8.17	8.51	8.73
1'-H	6.20	6.27	6.19	6.22	6.47
2'-H	5.50	4.91	5.46	4.91	4.94
3'-H	5.59	5.25	5.55	5.25	5.25
4'-H	5.01	4.43	4.96	4.44	4.48
NH-CH ₂ -CH ₃ (s)	6.39	6.42	6.40	6.48	6.29
(q)	3.40	3.42	3.40	3.43	3.45
(t)	1.17	1.20	1.18	1.20	1.22
CH ₃ ^{endo}	1.55	1.57	1.54	1.56	1.47
CH ₃ ^{exo}	1.40	1.35	1.40	1.35	1.33
$\Delta\delta_{\text{CH}_3}^{\text{endo/exo}}$	0.15	0.22	0.14	0.21	0.14
$^3J_{(1'-\text{H}, 2'-\text{H})}$	<0.25	3.60	<0.25	3.71	3.66
$^3J_{(2'-\text{H}, 3'-\text{H})}$	5.82	5.94	5.78	5.95	5.86
$^3J_{(3'-\text{H}, 4'-\text{H})}$	4.05	4.15	3.99	4.16	4.02

a) Die Furanosyl-Vierspin-Systeme sind durch iterative Analyse berechnet (Nicolet-Programm ITRCL 1/2, NIC 17 – 30712), die berechneten chem. Verschiebungen und Kopplungskonstanten jeweils auf 2 Dezimalen gerundet. Da insbesondere die Purin-H-Resonanzen sehr empfindlich auf Temperatur und Konzentration ansprechen, ist die absolute Genauigkeit bzw. Reproduzierbarkeit der angegebenen δ -Werte sicher geringer als die digitale Auflösung von ± 0.001 ppm (1 Adresse).

Die Struktursicherung stützt sich auf unsere bewährten spektroskopischen Kriterien. Die Regiochemie am Purinring ergibt sich direkt aus dem Muster der heterocyclischen ^{13}C -Resonanzen^{8,11)} (s. Tab. 2a), die Konfiguration am anomeren Zentrum aus dem Verschiebungsmuster der Furan- ^{13}C -Atome (s. Lit.⁸⁾) sowie aus der verschwindend kleinen Kopplung $^3J_{(1'-\text{H}, 2'-\text{H})}$ für die α -Nucleoside¹²⁾ (Tab. 2b) bzw. für die Lyxuronsäurederivate **1b**, **2a** – **d** (1-H als Singulett, s. exp. Teil). In den Protonen-NMR-

Spektren fällt auf, daß im Gegensatz zu sonstigen Befunden⁸⁾ die Lage des 1'-H-Signals beim Übergang vom α - zum β -Nucleosid nahezu unverändert bleibt, während 2'-H und 4'-H um 0.55, 3'-H um 0.3 ppm zu höherem Feld verschoben erscheinen (s. Tab. 2b).

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Förderung dieser Arbeit. Herrn cand. chem. H.-J. Höfer gilt unser Dank für seine Mitarbeit bei den Synthesen, Dr. W. Rozdzinski für die Aufnahme der hochaufgelösten Massenspektren.

Experimenteller Teil

Geräte: ¹H-NMR-Routinespektren: Varian T 60, Bruker WP 80 CW. – ¹H- und ¹³C-NMR-Pulsfouriertransform-Spektren: Bruker HX 90 E mit 15"-Magnet (90.00 bzw. 22.63 MHz Nominalfrequenz), Nicolet BNC 12 (16k Datenmemory). – Massenspektren (nieder- und hochaufgelöst): Varian MAT 711 mit Datensystem SS 100. – UV-Spektren: Beckman ACTA M VI, 1-cm-Quarzküvetten. – Schmelzpunkte (unkorrigiert): Kupferblock.

Chromatographie: Analytische Dünnschichtchromatogramme: Kieselgel-Fertigfolien Polygram Sil G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel & Co.), 40 × 80 und 50 × 200 mm. – Alle zur chromatographischen Trennung benötigten Lösungsmittel wurden destilliert. – **Trockengepackte Säulen** (zum Betrieb bei leichtem N₂-Überdruck): Innendurchmesser 20 mm, Füllhöhe 100–250 mm, Merck Kieselgel 60 (Korngröße 0.04–0.063 mm, 230–400 mesh ASTM), Präparation nach Lit.¹³⁾. – **Mitteldrucksäulenchromatographie:** Hierfür wurde die an unserem Institut entwickelte Apparatur eingesetzt¹⁴⁾ (Kolbenpumpe Lewa FL 1 der Fa. Ott, Leonberg; CfG-Pulsationsdämpfer; UV-Detektor Gilson Spectrachrom). Zur Trennung wurde eine speziell präparierte Säule (Typ C¹⁴), Packung 330 g Merck Kieselgel Lichroprep Si 60/Korngröße 0.012–0.025 mm, 10000 theor. Böden) verwendet.

¹H-NMR: Die ¹H-chemischen Verschiebungen sind in δ [ppm] angegeben und auf TMS als int. Standard bezogen (Konz. 0.2–1.0 M).

a) *1-O-Benzyl-2,3-O-isopropyliden- α -D-lyxofuranuronsäure-benzylester* (**1b**): 2,3-O-Isopropyliden- α -D-lyxofuranuronsäure-methylester⁹⁾ (**1a**) wird an einer trockenepackten Säule mit leichtem N₂-Überdruck und Essigester/Petrolether (PE) [40–60 °C] 1:1 als Eluens gereinigt. 3.1 g (14.0 mmol) **1a** werden bei Raumtemp. unter Rühren in 26 ml absol. Benzylalkohol gelöst und mit 2.5 ml einer bei 0 °C gesättigten Lösung von HCl in absol. Benzylalkohol versetzt. Man rührt 20 h bei Raumtemp. nach, neutralisiert mit Pyridin auf pH 6 und zieht den Benzylalkohol im Hochvakuum ab (Badtemp. max 65 °C). Der ölige Rückstand wird in 60 ml Ether aufgenommen, mit 20 ml wäßr. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und die wäßr. Phase mit 6 × 30 ml Ether extrahiert. Die organische Phase wird über CaCl₂ getrocknet, eingedampft und das Substanzgemisch (**1a**, **1b** und etwas 2,3-deblockierte Verbindung) 65 h bei Raumtemp. mit 26 ml absol. Benzylalkohol und 2.3 ml HCl-Lösung umgesetzt (nach DC ist die Reaktion nahezu beendet). Die Reaktionslösung wird wie oben beschrieben aufgearbeitet und weitgehend vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt (3.9 g \pm 72%) wird in zwei Portionen an trockenepackten Säulen mit leichtem N₂-Überdruck chromatographiert.

CH ₂ Cl ₂ /PE [40–60 °C]	Fraktionen (jeweils 200 ml)	
1:9	1a, b	Nebenprodukte
3:7	2	Nebenprodukte
1:1	3	1b
7:3	4a, b	1b
9:1	5a	1b
	5b	–

Zur Analyse wurde aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ [40–60 °C] umkristallisiert. Ausb. 2.8 g (7.3 mmol) **1b** (52%), farbl. Kristalle, Schmp. 60–61 °C. DC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ [40–60 °C] 7:3): R_F (**1b**) 0.31. – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.29, 1.40 (s, CH_3); 4.50, 4.73 (d^A , d^B , 1- $\text{O-CH}^A\text{H}^B$ –Ph, J = 11 Hz); 4.62 (d, 2-H, J = 4 Hz); 4.71 (d, 4-H, J = 2 Hz); 5.07 (dd, 3-H); 5.32 (s, 1-H); 5.28 (m, Ph– CH_2 –OCO); 7.35 (m, Ph).

$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_6$ (384.4) Ber. C 68.74 H 6.29 Gef. C 68.51 H 6.16

b) 2,3-*O*-Isopropyliden-*N,N*-dimethyl- α -*D*-lyxofuranuronamid (**2b**): 45 ml einer bei 0 °C mit trockenem Dimethylamin gesättigten Methanollösung werden bei –25 °C mit einer Lösung von 170 mg (0.8 mmol) **1a** (Reinigung wie bei a) in 5 ml Methanol versetzt. Man läßt 1 d bei –22 °C stehen (nach DC kein **1a** mehr vorhanden) und dampft zur Trockene ein. DC ($\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ 2:8): R_F (**1a**) 0.80, R_F (**2b**) 0.22. – MS: M^+ 231 (1%). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.32, 1.43 (s, CH_3); 2.24, 2.64 (s, NCH_3); 4.27 (s, OH); 4.53 (d, 2-H, J = 4 Hz); 4.65 (d, 4-H, J = 6 Hz); 5.00 (dd, 3-H); 5.45 (s, 1-H).

c) 1-*O*-Benzyl-*N*-ethyl-2,3-*O*-isopropyliden- α -*D*-lyxofuranuronamid (**2c**): In 80 ml Methanol wird bei 0 °C ebensoviel trockenes Ethylamin einkondensiert, eine Lösung von 230 mg (0.6 mmol) **1b** in 30 ml Methanol zugegeben und 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Eindampfen wird das kristalline Produkt 3 d im Hochvakuum getrocknet. Umkristallisation aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ [40–60 °C] liefert farbl. Kristalle, Schmp. 159 °C. Ausb. 130 mg (0.4 mmol) **2c** (68%). DC (Benzol/Aceton 9:1): R_F (**2c**) 0.29. – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.22 (t, CH_3 , J = 7 Hz); 1.32, 1.44 (s, CH_3); 3.42 (m, NCH_2); 4.52, 4.73 (d^A , d^B , 1- $\text{O-CH}^A\text{H}^B$ –Ph, J = 12 Hz); 4.57 (d, 2-H, J = 4 Hz); 4.67 (d, 4-H, J = 6 Hz); 5.07 (dd, 3-H); 5.22 (s, 1-H); 6.47 (m, NH); 7.37 (m, Ph).

$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (321.4) Ber. C 63.75 H 7.20 N 4.36 Gef. C 63.54 H 7.21 N 4.42

Wird der Ansatz auf das Zehnfache erhöht, ist zur vollständigen Entfernung des Benzylalkohols eine säulenchromatographische Reinigung erforderlich (frakt. Elution an trockengepackten Säulen).

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ [40–60 °C]	Fraktionen (je 200 ml)	
2:8	1a, b	Nebenprodukt
1:1	2a, b	Nebenprodukt + wenig 2c
10:0	3	2c
Essigester/PE [40–60 °C]		
4:6	4a, b	2c
	4c	–

d) *N*-Ethyl-2,3-*O*-isopropyliden- α -*D*-lyxofuranuronamid (**2a**): 120 mg Pd-Schwarz werden in 10 ml über Phosphorpentoxid und entwässertem K_2CO_3 getrocknetem Essigester vorhydriert, mit einer Lösung von 450 mg (1.4 mmol) **2c** in 80 ml absol. Essigester und 0.3 ml bei 0 °C mit HCl gesättigtem Methanol versetzt und (in einer Schüttelente) hydriert. Nach 16 h wird vom Katalysator abgetrennt, nacheinander mit 1 g NaHCO_3 und 40 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und mit 8 × 50 ml Essigester extrahiert. Die organische Phase wird direkt eingengt und 1 h im Hochvakuum getrocknet. Ausb. 318 mg (1.36 mmol) **2a** (98%), chromatographisch rein. Bei der Umsetzung ist darauf zu achten, daß die Ausgangsverbindung **2c** unbedingt frei von Benzylalkohol ist. – Umkristallisation aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ [40–60 °C] liefert farbl. Kristalle, Schmp. 170 °C. DC (Benzol/Aceton 7:3): R_F (**2a**) 0.16. – $^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN): δ = 1.11 (t, CH_3 , J = 8 Hz); 1.29, 1.40 (s, CH_3); 3.26 (m, NCH_2); 4.44 (d, 2-H, J = 4 Hz); 4.56 (d, 4-H, J = 6 Hz); 4.98 (dd, 3-H); 5.38 (s, 1-H); \approx 6.75 (NH).

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ (231.3) Ber. C 51.94 H 7.41 N 6.06 Gef. C 51.56 H 7.56 N 5.88

Tab. 3. Darstellung und Reinigung (s. Tab. 1, allg. Arbeitsvorschrift und Lit.⁸⁾) von 1'-Desoxy-N-ethyl-2',3'-O-isopropyliden-D-lyxofuranuronamid-Nucleosiden von 6-Chlor- und 2,6-Dichlorpurin mit verschiedener Aglykon/Zucker-Verknüpfung^{a)}

Ums. Nr.	erhaltene Nucleoside 1'-Desoxy-1'[{...}]- N-ethyl-2',3'-O-iso- propyliden-D-lyxo- furanuronamid	Verknüpfungs- isomere (%-Anteil an Gesamtausb.) ^{b)}	Reinigung und Vortrennung über Trockensäulen ^{c)} mit fraktionierender Elution ^{c)}	Feintrennung durch Mitteldruck- chromatographie (Säulentyp B) ^{e)}	
			Eluens	Eluens	
1	-[6-chlorpurinyl]-	5a, 5b (45/24) DPN, Nucl. (31)	PE/EtOAc 1:1	Z	Reihenfolge der eluierten Subst.
			3:7	Z	
			0:10	4 9α	
				5 9α	
				6 9α	
				7 -	
				8 -	
				9 9β + DPN	
				10 Nucl.	
			2	-[2,6-dichlorpurinyl]-	
CH ₂ Cl ₂ /EtOH 98:2					
95:5					
9:1					
PE/EtOAc 1:1					
3:7					
0:10					
	4 9α				
	5 9α + 9β				
	6 9β + 7β				
	7 DPN				
	8 DPN				
	CH ₂ Cl ₂				

a) Die Verknüpfungsisomeren sind wie folgt bezeichnet: **a** = 9-α, **b** = 9-β, **B** = 7-β. Daneben sind angeführt: DPN = Dipurinynucleoside, Nucl. = nicht identifizierte Nucleoside (s. Tab. 1, Fußnote^{b)}). — b) Bezogen auf nicht zurückgewonnene Zuckerkomponente (s. Tab. 1, Fußnote^{a)}). — c) Für Details der chromatographischen Trennungen s. Lit.⁸⁾. Bei der fraktionierenden Elution wurden definierte Solvensgemische mit steigender Polarität nacheinander benutzt und jeweils 150-ml-Fractionen genommen; Eluens PE = Petrolether (siedend). — d) Die Strukturzuordnung für die in den Einzelfractionen enthaltenen Substanzen erfolgte mit DC bzw. nach der Feintrennung mit DC und/oder ¹H-NMR; Z = Zuckerkomponente (1'-Chlor- bzw. 1'-Acetoxy). — e) Für Details der Mitteldruckchromatographie s. Lit. 8,13,14).

Tab. 4. Charakteristische analytische Daten von 1'-Desoxy-*N*-ethyl-2',3'-*O*-isopropyliden-D-lyxofuranuronamid-Nucleosiden von 6-Chlor- und 2,6-Di-chlorpurin mit verschiedener Aglycon/Zucker-Verknüpfung (5 und 6, s. Tab. 1) (NMR-Daten s. Tab. 2a, b)

Ums. Nr.	Isolierte Nucleo-side	Schmp. (°C)	R _F -Wert ^{a)}	UV (in CH ₃ OH) ^{b)} λ [nm] (ε)	Summenformel	Molmasse ^{c)}	Elementaranalyse C H Cl N
1	5a (9α)	206	0.39	250 (sh) 264 (9320)	C ₁₅ H ₁₈ ClN ₅ O ₄ (367.79)	Ber. 367.1047	Ber. 48.99 4.93 9.64 19.04
	5b (9β)	Schaum	0.32	248 (sh) 264 (8140)		M ⁺ 367.1046	Gef. 48.83 5.04 9.77 18.79
2	6a (9α)	207 (Zers.)	0.41	213 (13200) 254 (sh) 274 (6030)	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₅ O ₄ (402.24)	Ber. 401.0658	Ber. 44.79 4.26 17.63 17.41
	6b (9β)	107 (Subl.)	0.37	212 (20300) 252 (sh) 273 (9320)		Gef. 44.88 4.23 17.70 17.14	
	6B (7β)	Öl		213 ₅ (21900) 256 (sh) 274 (6100) 280 ₅ (6050) 291 (sh)		M ⁺ 401.0656	Gef. 44.76 4.37 17.75 17.29

a) Laufmittel: CH₂Cl₂/Ethanol 96:4. — b) Gemessen an 10⁻⁴ M Lösungen, (sh) = Schulter. — c) Sofern die Nucleoside hartnäckig Chromatographie- oder NMR-Lösungsmittel zurückhielten und daher keine korrekten Elementaranalysen zu erhalten waren, wurden hochauflösende Massenspektren angefertigt (Massenfeinbestimmung über peak matching, Referenz PFK, Direktionlaß 170 °C, Quelle 170 °C, Quelle 170 °C, Ionisierungsenergie 70 eV).

e) *1 α -Chlor-1-desoxy-N-ethyl-2,3-O-isopropyliden-D-lyxofuranuronamid (2d)*: 950 mg (4.1 mmol) **2a** in 15 ml absol. Benzol werden mit 3.5 ml Thionylchlorid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 2.5 h bei 70 °C gerührt. Nach Einengen am Rotationsverdampfer wird mit 45 ml CHCl₃ aufgenommen, 4.5 g NaHCO₃ zugegeben und die Mischung unter Rühren vorsichtig (zuerst tropfenweise) mit 45 ml Wasser versetzt. Nach Abtrennen der CHCl₃-Phase wird noch mit 4 × 30 ml CHCl₃ extrahiert; die organischen Phasen werden über CaCl₂ getrocknet und eingedampft. Das kristalline, leicht gelbliche Rohprodukt ist sehr zersetzlich und wird daher sofort weiter umgesetzt. Rohausb. 980 mg (\approx 95%). Zur Reinigung wird an einer trockengepackten Säule mit leichtem N₂-Überdruck chromatographiert (Essigester/PE [40–60 °C] 4:6). Reinsub. 300 mg (1.2 mmol) **2d** (29%). DC (Essigester/PE [40–60 °C] 4:6): R_F (**2d**) 0.34. – MS (peak matching): M^+ 249.0767 (C₁₀H₁₆ClNO₄ theor. 249.0768). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.20 (t, CH₃, J = 7 Hz); 1.29, 1.38 (s, CH₃); \approx 3.50 (m, NCH₂); \approx 6.2 (s, 1-H).

f) *Kondensationsreaktionen*: Die zur Nucleosid-Kondensation eingesetzten Trimethylsilylpurine **4a**, **b** werden wie beschrieben dargestellt und umgesetzt⁸⁾; die Details der säulenchromatographischen Aufarbeitung sind in Tab. 3 zusammengefaßt. Bei der Berechnung der Nucleosid-Gesamtausbeute (s. Tab. 1) wurden nur die chromatographisch reinen Verknüpfungsisomeren (**a**, **b**, **B**) sowie die Dipurinylnucleoside (s. Tab. 3) berücksichtigt; sie wird bezogen auf die bei der Reaktion verbrauchte, d. h. nicht rein zurückgewonnene Zuckermenge. Die ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der erhaltenen Nucleoside **5** und **6** sind in Tab. 2a, b, die restlichen physikalischen und analytischen Daten in Tab. 4 zusammengestellt.

¹⁾ H. H. Stein und P. Somani, Ann. N. Y. Acad. Sci. **225**, 380 (1975).

²⁾ G. R. Lösch, Dissertation Univ. Stuttgart 1978.

³⁾ ^{3a)} R. R. Schmidt, U. Schloz und D. Schwille, Chem. Ber. **101**, 590 (1968). – ^{3b)} R. R. Schmidt und H. J. Fritz, Chem. Ber. **103**, 1867 (1970). – ^{3c)} K. H. Jung und R. R. Schmidt, Chem. Ber. **113**, 1775 (1980).

⁴⁾ K. H. Jung, R. R. Schmidt und D. Heermann, Chem. Ber. **114**, 2834 (1981).

⁵⁾ K. E. Norris, O. Manscher, K. Brunfeldt und J. B. Petersen, Nucl. Acids Res. **2**, 1093 (1975).

⁶⁾ G. P. Moss, C. B. Reese, K. Shofield, R. Shapiro und L. Todd, J. Chem. Soc. **1963**, 1149; H. Ungar-Waron, E. Hurwitz, J.-C. Jaton und M. Sela, Biochem. Biophys. Acta **138**, 513 (1967).

⁷⁾ Synthesen von Nucleosidcarbonsäuren wurden mit Glucuron-, Xyluron- und Arabinuronsäurederivaten sowie mit Pseudoglycalen von Hexuronsäuren durchgeführt: – ^{7a)} M. L. Wolfram und P. McWain, J. Org. Chem. **30**, 1099 (1965). – ^{7b)} F. W. Lichtenhaler, A. Heerd und K. Strobel, Chem. Lett. **1974**, 449. – ^{7c)} A. A. Akhrem, V. A. Timoschuk und I. A. Mikhailopulo, Carbohydr. Res. **43**, 195 (1975). – ^{7d)} T. Kondo, N. Nakai und T. Goto, Tetrahedron **29**, 1801 (1973). – ^{7e)} R. F. Schinazi, M. S. Chen und W. H. Prusoff, J. Med. Chem. **21**, 1141 (1978). – ^{7f)} R. R. Schmidt und R. Angerbauer, Carbohydr. Res. **72**, 272 (1979), sowie dort zitierte Literatur.

⁸⁾ R. R. Schmidt, G. R. Lösch und P. Fischer, Chem. Ber. **113**, 2891 (1980).

⁹⁾ R. R. Schmidt und P. Hermentin, Chem. Ber. **112**, 3616 (1979).

¹⁰⁾ K. H. Jung, Dissertation Univ. Stuttgart 1977.

¹¹⁾ P. Fischer, G. R. Lösch und R. R. Schmidt, Tetrahedron Lett. **1978**, 1505.

¹²⁾ M. J. Robins und M. MacCoss, J. Am. Chem. Soc. **99**, 4654 (1977).

¹³⁾ G. Nill, Dissertation Univ. Stuttgart 1979.

¹⁴⁾ G. Helmchen und B. Glatz; Ein apparativ einfaches System und Säulen höchster Trennleistung zur präparativen Mitteldruckchromatographie, Anhang zur Habilitationsschrift G. Helmchen, Univ. Stuttgart 1980.