

Darstellung von (9- β -D-Ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purin-6-on durch Cyclisierung von N-1-Aminoguanosin

Preparation of (9- β -D-Ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purine-6-one by Cyclization of N-1-Amino Guanosine

Eckhard Schlimme

Laboratorium für Biologische Chemie im Fachbereich Naturwissenschaften (Fachgebiet Organische Chemie) der Universität — Gesamthochschule —, Paderborn

Z. Naturforsch. 33 c, 326—329 (1978); eingegangen am 22. März 1978

(9- β -D-Ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purine-6-one, ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, Cross Links

I report on the preparation of (9- β -D-ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purine-6-one (**2**) by cyclization of N-1-amino guanosine (**1**) with formamide. The tricyclic nucleoside analogue was characterized by NMR-spectroscopy (^1H -NMR; ^{13}C -NMR). The utility of **2** for the introduction of "cross-links" in double stranded nucleic acids is discussed.

1. Einführung

Die Verknüpfung von Nucleinsäuredoppelsträngen, „cross-links“, wurde als Ursache der Replikationshemmung von Desoxyribonucleinsäure durch das Antibiotikum Mitomycin C beschrieben [1, 2]. Von besonderem Interesse sind deshalb Nucleotidanaloga, die als „cross-links“ in Polynucleotide eingebaut werden können.

Die Synthese des tricyclischen (9- β -D-Ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purin-6-on, die in der vorliegenden Arbeit beschrieben wird, ermöglicht die Einführung eines zweiten β -D-Ribofuranosylrestes am N-10 bzw. N-12 und damit die Darstellung synthetischer Polynucleotide mit vernetzten Basen.

2. Synthese von (9- β -D-Ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purin-6-on

Guanosin wird gemäß Broom und Robins [3] mit Hydroxylamin-O-sulfonsäure zum N-1-Aminoguanosin **1** umgesetzt. Der Fortschritt der Reaktion lässt sich sowohl chromatographisch als auch elektrophoretisch leicht verfolgen. Umsetzen von **1** in Formamid führt zu einem Kondensationsprodukt, das chromatographisch und elektrophoretisch einheitlich ist.

Sein ^{13}C -NMR-Spektrum zeigt im Gegensatz zu Guanosin und **1** für das C-2-Atom ein nach höherem Feld verschobenes Resonanzsignal von 149,35 ppm

(Guanosin: 154,59 ppm; 154,6 ppm Lit. [4]; **1**: 154,18 ppm), was auf einen Einbau des Purinringes in ein Triazolsystem hinweist. Darüberhinaus ist im Kondensationsprodukt die Lage des C-2-Signals

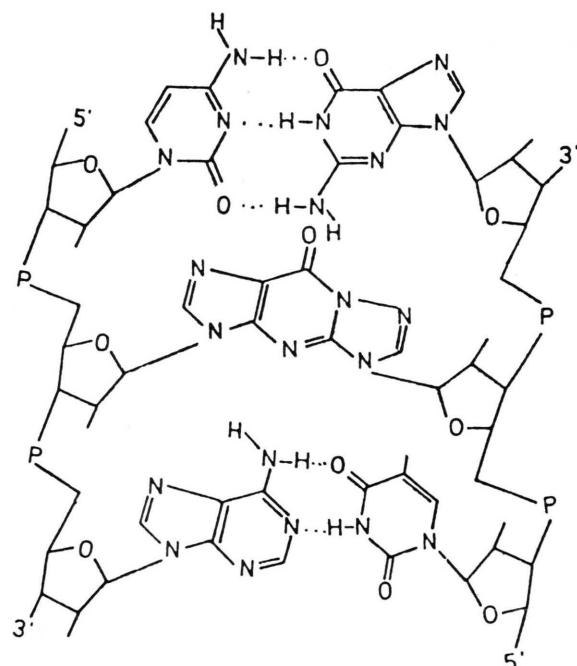


Abb. 1. Schematische Darstellung eines Polynucleotiddoppelstranges mit einem Nucleotidanalogon als „cross-link“.

mit der des C-4-Atoms (148,02 ppm) vergleichbar und entspricht nicht unerwartet der Lage des C-b-Signals im Triazolopyrimidin **3** (Lit. [5] 149,6 ppm), dem ersten beschriebenen synthetischen Nucleosidanalogon mit einem N-Brückenkopfatom [6].

Requests for reprints should be sent to Prof. Dr. Dr. Eckhard Schlimme, Fachbereich Naturwissenschaften der Universität — Gesamthochschule —, Warburger Str. 100, Bauteil J, D-4790 Paderborn.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

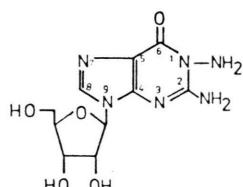
Die Zuordnung des Kohlenstoffs (C-11) im anellierten Triazolsystem des Kondensationsproduktes folgt einmal aus der Ausspaltung des ^{13}C -Signals zum Dublett im teilentkoppelten Spektrum (141,7 ppm) und zum anderen aus der bekannten Lage des Resonanzsignals von C-8 (137,06 ppm). Dieses Ergebnis ist in Übereinstimmung mit dem Befund, daß die Aromatizität mit zunehmendem Stickstoffgehalt im Ring sinkt [7, 8]. Die Lage des ^{13}C -Signals des dem C-11 entsprechenden C-2-Atoms von **3** (140,8 ppm Lit. [5]) bestätigt die Zuordnung des C-11-Signals.

Das ^1H -Signal bei 8,73 ppm im Kondensationsprodukt liegt im Bereich der Absorption des C-2-Protons von **3** (9,19 ppm Lit. [6]) und ist somit dem C-11-Proton im Triazolsystem zuzuordnen. Die beobachtete Verschiebung des H-11-Signals in **2**

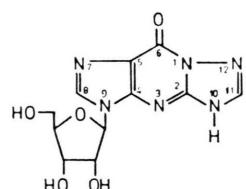
nach höherem Feld erklärt sich aus der Protonierung von N-10 (bzw. N-12), wogegen in **3** das entsprechende N-3 glykosyliert vorliegt.

Das UV-Spektrum ist beim tricyclischen Chromophor gegenüber denen von Guanosin und **1** mit λ_{\max} -Werten von jeweils 254 nm bathochrom verschoben (Abb. 2).

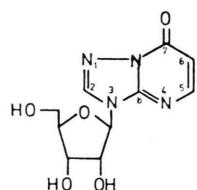
Die Ergebnisse der Elementaranalyse sowie der NMR-spektroskopischen Befunde stehen im Einklang mit der Struktur **2** für das erhaltene Kondensationsprodukt.



1



2



3

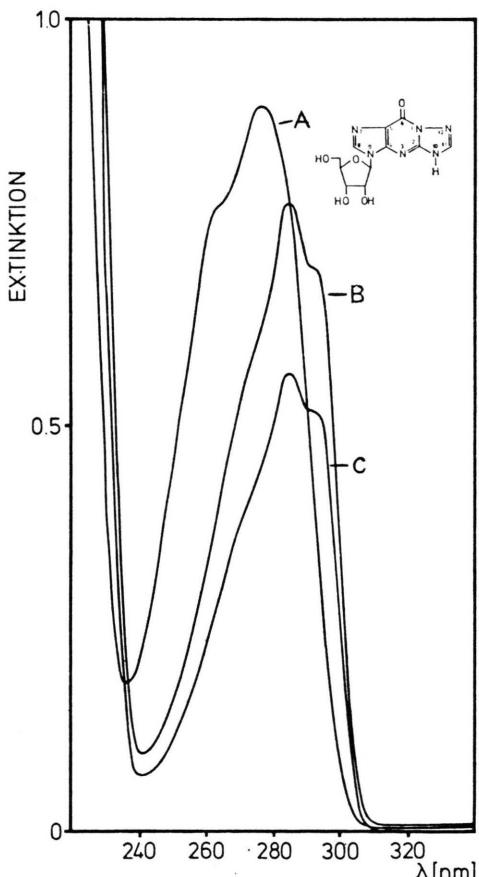


Abb. 2. UV-Spektren von **2** (A) in 0,1 N HCl, (B) in 0,1 N NaOH und (C) in Wasser. (A) : 76 μM , (B) : 52 μM und (C) : 40 μM .

Das Triazoloinosin **2** ermöglicht nach Einführung eines zweiten N-glykosidisch verknüpften Zuckerrestes im Triazolring die Phosphorylierung zu einem Nucleotidanalogon, welches zur Darstellung vernetzter Polynukleotidstränge (Abb. 1) geeignet ist. Der Einbau chemischer „cross-links“ dieser Art böte experimentelle Möglichkeiten, die biologische Bedeutung des „Schmelzens“ von Nucleinsäuredoppelstrangregionen, z.B. für die Funktion der Transfer-Ribonukleinsäuren, zu studieren.

Die ^{13}C -Spektren verdanke ich Herrn Professor H. Marsmann, Paderborn, dem ich ebenso wie Herrn Professor F. Seela, Paderborn, für anregende Diskussionen verbunden bin.

Diese Arbeit wurde vom Land Nordrhein-Westfalen und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

3. Experimentelles

3.1. Methoden

UV-Spektren: Diese wurden mit einem Zeiss PMQ3- bzw. einem Shimadzu UV-200 Spektrometer aufgenommen.

$^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Varian EM 390, 90 MHz;

$^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren: Bruker WP 60 DS, 60 MHz; rel. Tetramethylsilan in ppm mit $\delta_{\text{TMS}} = \delta_{\text{DMSO}} + 39,5$ ppm. Die Zahl der Protonen wurde durch eine „off resonance“-Entkopplung ermittelt; die unter dieser Bedingung zu beobachtende Aufspaltung ist als s (Singulett), etc. angegeben.

Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Beller, Göttingen.

Schmelzpunkte: SMP 20 Schmelzpunktgerät (Büchi, Schweiz), nicht korrigiert.

Chromatographie: Die analytische Dünnschichtchromatographie (DC) wurde auf Cellulose-F-Fertigplatten (Merck, Darmstadt) und PEI-Cellulosefolien Polygram CEL 300 (Macherey und Nagel, Düren) ausgeführt. Als Substanznachweis diente die UV₂₅₄-Absorption. Als Lösungsmittelsysteme (LS) für die DC wurden eingesetzt: LS I = 0,75 M KH_2PO_4 (pH 4,1), LS II = 0,25 M LiCl, LS III = Ethanol/1 M Ammoniumacetat (7 : 3, V : V).

Dünnschichtelektrophorese: DE-Doppelkammer (Desaga, Heidelberg) mit Kieselgel-Dünnschichtplatten (Woelm, Eschwege). Als Elektrophoresepuffer wurde LS IV = 0,1 M Natriumcitratpuffer, pH 4,0, benutzt.

3.2. Chemische Synthese und Charakterisierung

3.2.1. N-1-Aminoguanosin (1): 4,3 g (15,2 mmol) Guanosin werden in 60 ml 1 N NaOH gelöst und nach Zugabe von 2,6 g (23 mmol) Hydroxylamin-O-sulfonsäure in 25 ml Wasser bei Raumtemp.

gerührt. Nach 24 h wird der farblose Niederschlag abfiltriert und aus heißem Wasser mehrfach umkristallisiert, 2,9 g (64%). Farblose Kristalle vom Schmp. 241 °C.

DC (PEI-Cellulose, LS I; LS II): $R_F = 0,55$ (Guanosin: $R_F = 0,55$); $R_F = 0,55$ (Guanosin: $R_F = 0,58$). DC (Cellulose, LS III): $R_F = 0,42$ (Guanosin: $R_F = 0,50$). DE (Kieselgel, LS IV): $R_E = (-) 1,7$ rel. zu Guanosin.

UV (0,1 N NaOH): $\lambda_{\text{max}} = 254$ nm (255, pH 11, Lit. [3]), $\epsilon = 13,6 \text{ cm}^2 \times \mu\text{mol}^{-1}$ (14,3, pH 11, Lit. [3]).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆): $\delta = 5,33$ (d, H-2', $J = 5$ Hz), 5,35 (5,47, Lit. [3]) (s, N-1-NH₂), 5,73 (d, H-1', $J = 5$ Hz), 7,05 (7,18, Lit. [3]) (s, C-2-NH₂), 7,93 (8,08, Lit. [3]) ppm (s, H-8).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d₆): $\delta = 61,55$ (t, C-5'), 70,47 (d, C-2'), 73,76 (d, C-3'), 85,30 (d, C-4'), 86,65 (d, C-1'), 115,91 (s, C-5), 136,06 (d, C-8), 148,51 (s, C-4), 154,18 (s, C-2), 156,50 ppm (s, C-6).

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_5$ (298,26)

Ber. C 40,27, H 4,73, N 28,18, O 26,82,
Gef. C 40,23, H 4,74, N 28,15, O 26,56.

3.2.2. (9- β -D-Ribofuranosyl)-s-triazolo-[1,2a]-purin-6-on (2): 2,5 g (8,4 mmol) von **1** werden in 60 ml Formamid 1 h bei 180 °C gerührt. Nach Abdampfen des Formamids im Vakuum wird der Rückstand in heißem Wasser gelöst, durch Aktivkohle entfärbt und umkristallisiert. 0,8 g (31%) vom Schmp. 236 – 240 °C (Zers.).

DC (PEI-Cellulose, LS I; LS II): $R_F = 0,43$; $R_F = 0,22$. DC (Cellulose, LS III): $R_F = 0,47$. DE (Kieselgel, LS IV): $R_E = 0$.

UV: [(A) 0,1 N HCl, (B) 0,1 N NaOH, (C) aqua dest., 25 °C]: $\lambda_{\text{max}} =$ (A) 277, (B) 285, (C) 285 nm; $\epsilon =$ (A) 11,8, (B) 14,9, (C) 14,0 $\text{cm}^2 \times \mu\text{mol}^{-1}$.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆): $\delta = 5,83$ (d, H-1', $J = 5$ Hz), 8,20 (s, H-8), 8,73 (s, H-11) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d₆): $\delta = 61,42$ (t, C-5'), 70,40 (d, C-2'), 73,98 (d, C-3'), 85,45 (d, C-4'), 87,39 (d, C-1'), 117,55 (s, C-5), 137,76 (d, C-8), 141,52 (d, C-11), 148,01 (s, C-4), 149,35 (s, C-2), 151,11 (s, C-6) ppm.

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_5$ (308,25)

Ber. C 42,86, H 3,90, N 27,27, O 25,97,
Gef. C 42,69, H 4,03, N 27,24, O 25,87.

- [1] W. Szybalski u. N. V. Iyer, in *Antibiotics* (D. Gottlieb u. P. D. Shaw, Ed.), **Vol. 1**, S. 211, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1967.
- [2] E. F. Gale, E. Cundliffe, P. E. Reynolds, M. H. Richmond u. M. J. Waring, *The Molecular Basis of Antibiotic Action*, S. 456, Wiley Verlag, London 1972.
- [3] A. D. Broom u. R. K. Robins, *J. Org. Chem.* **34**, 1025 (1969).
- [4] J. B. Stothers, *Organic Chemistry*, **Vol. 24** (A. T. Blomquist, H. Wassermann), S. 472, Acad. Press, New York, San Francisco, London 1972.
- [5] Ph. Dea, G. R. Revankar, R. L. Tolman, R. K. Robins u. M. P. Schweizer, *J. Org. Chem.* **39**, 3226 (1974).
- [6] M. W. Winkley, G. F. Judd u. R. K. Robins, *J. Heterocyclic Chem.* **8**, 237 (1971).
- [7] M. R. Battaglia u. G. L. D. Ritchie, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 897 (1977).
- [8] B. Heinz, H. C. Marsmann u. U. Niemann, *Z. Naturforsch.* **32 b**, 163 (1977).