

Arch. Pharm. (Weinheim) 315, 368–376 (1982)

Cyclophosphate, 8. Mitt.¹⁾

Synthese und Eigenschaften von 8-substituierten Adenosin-3',5'-Phosphorsäure-benzylestern

Joachim Engels* und Alfred Jäger

Fakultät für Chemie der Universität Konstanz, Postfach 5560, D-7750 Konstanz
Eingegangen am 4. Mai 1981

Die 8-substituierten Adenosin-3',5'-phosphate (cAMP) **2–12** sind durch Substitution des Broms in **1** durch verschiedene O-, S-, Se- und N-Nucleophile zugänglich. Die pK_a -Werte der Ester wurden spektrophotometrisch bestimmt. Mit Phenyldiazomethan wurden diese Di-ester in einfacher Weise in die Tri-ester **13–23** übergeführt. Diese als Diastereomerenmischungen vorliegenden 1,3,2λ⁵-Dioxaphosphorinane lassen sich chromatographisch trennen. Die aufgrund des ³¹P-NMR-Kriteriums vorgeschlagene Konfiguration konnte jetzt durch Zuhilfenahme chemischer Verschiebungsdaten der ¹H-NMR-Spektren bestätigt werden. 8-substituierte Cyclophosphate dieses Typs bieten sich als lipophile und zellgängige cAMP-Derivate zur pharmakologischen Prüfung an.

Cyclophosphates, VIII¹⁾: Synthesis and Properties of 8-Substituted Benzyl Adenosine-3',5'-phosphates

The 8-substituted adenosine-3',5'-phosphates (cAMP) **2–12** were prepared by the substitution of bromine in **1** for various O, S, Se and N nucleophiles. pK_a Values of the products were measured spectrophotometrically. Compounds **2–12** were then esterified with phenyldiazomethane to yield the benzyl esters **13–23**. The diastereomeric mixtures of these 1,3,2λ⁵-dioxaphosphorinanes were separated chromatographically. Configurations were determined by ³¹P-NMR spectroscopy and were further substantiated by introducing ¹H-NMR chemical shift data as a new criterion. 8-Substituted benzyl cyclophosphates of this type offer themselves as lipophilic and cell penetrating cAMP derivatives for pharmacological purposes.

Adenosin-3',5'-phosphat (cAMP) spielt eine bedeutende Rolle bei der Regulation vieler zellulärer Prozesse. Derivate des cAMP eröffnen die Möglichkeit, Wirkungen des cAMP in einem breiten Spektrum durchzuspielen²⁾.

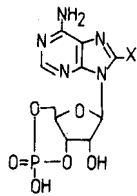
Um die geringe Zellgängigkeit der Cyclophosphate zu überwinden und eine erhöhte Resistenz gegen Diesterasen zu erzielen, haben wir Benzylester des cAMP untersucht³⁾. Am Papillarmuskel des Meerschweinchens⁴⁾ ließ sich zeigen, daß diese Ester als zellgängige cAMP-Analoga wirken. Ausgehend von der Überlegung, das cAMP-Molekül an einer für die Erkennung durch das Wirkenzym (Proteinkinase) nicht essentiellen Stelle durch Einführen eines lipophilen Substituenten zu verändern, versuchten wir, die Wirksamkeit dieser Ester zu verbessern. Aufgrund von synthetischen Arbeiten^{5,6)} und Modellvorstellungen für die cAMP-Bindung an der Proteinkinase^{7,8)} entschieden wir uns für die Synthese von in Stellung 8 verschieden substituierten cAMP-Benzylestern. Der

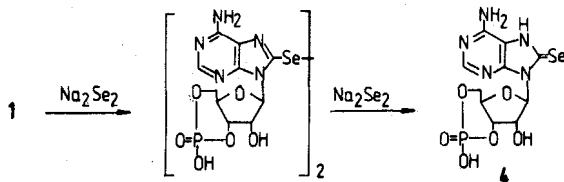
chemische Zugang läßt sich über die direkte Bromierung des cAMP in 8-Stellung verwirklichen⁹⁾, eine Reaktion, die in analoger Weise schon vor fast 100 Jahren von *Fischer*¹⁰⁾ beschrieben wurde. In diesen halogensubstituierten Purinen läßt sich das Brom leicht durch eine Vielzahl von Nucleophilen austauschen.

Synthese der 8-substituierten cAMP-Derivate 2-12

Ausgehend vom 8-Bromadenosin-3',5'-phosphat **1** wurden die Verbindungen **2-12** durch direkten Austausch mit den entsprechenden Nucleophilen erhalten.

Die Substitution im Fall der Schwefel- und Aminoverbindungen verlief den Literaturdaten^{5,6)} entsprechend, wobei Ethanol gegenüber Methanol der Vorzug als Solvens gegeben wurde. Bei der Reaktion von **1** mit p-Chlorthiophenol und Natriummethylat in Methanol isolierten wir nach mehreren Stunden Kochen unter Rückfluß hauptsächlich **2**, das formale Hydrolyseprodukt von **1**. Wesentlich bessere Ergebnisse lassen sich jedoch mit Natriumacetat in Methanol erzielen (eine ähnliche Variante wurde jüngst auch von *Robins*⁵⁾ vorgeschlagen). Erwähnenswert ist noch die erstmals geglückte Darstellung des 8-*tert*-Butylderivates **8** auf diesem Wege.

	1	X = Br	7	X = S- <i>cyclo</i> -C ₆ H ₁₁
	2	X = OH	8	X = S- <i>tert</i> -C ₄ H ₉
	3	X = SH	9	X = SC ₆ H ₄ -4-Cl
	4	X = SeH	10	X = SeCH ₂ C ₆ H ₅
	5	X = SCH ₃	11	X = NHCH ₂ C ₆ H ₅
	6	X = SCH ₂ C ₆ H ₅	12	X = NCH ₃ CH ₂ C ₆ H ₅



Die Selenverbindung **4** wurde nach einer geeigneteren Methode dargestellt. *Shi-Hsi Chu et al.*¹¹⁾ erhielten **4** durch Umsetzung von **1** mit Natriumhydrogenselenid und erklärten die niedrige Ausbeute (16 %) mit der konkurrierenden Reduktion von **1** durch NaHSe zu cAMP (40 %). Außerdem zieht diese Nebenreaktion noch Trennprobleme nach sich. Wir erhielten **4** mittels „in situ-Technik“⁽¹²⁾ aus **2** mit Selen und Natriumborhydrid in 55proz. Ausbeute. Anstelle des erwarteten Diselenids kam man direkt zu der freien Selenverbindung **4**.

8-Benzylseleno-cAMP (**10**) ist durch Alkylierung von **4** zugänglich (38 %)¹¹⁾. Um die direkte Substitution von **1** mit dem recht oxidationsempfindlichen Benzylselenol zu umgehen, wurde **10** wiederum mit der „in situ-Technik“ aus dem gut handhabbaren Dibenzylidiselenid¹²⁾ mit Natriumborhydrid direkt aus **1** mit 46 % Ausbeute erhalten.

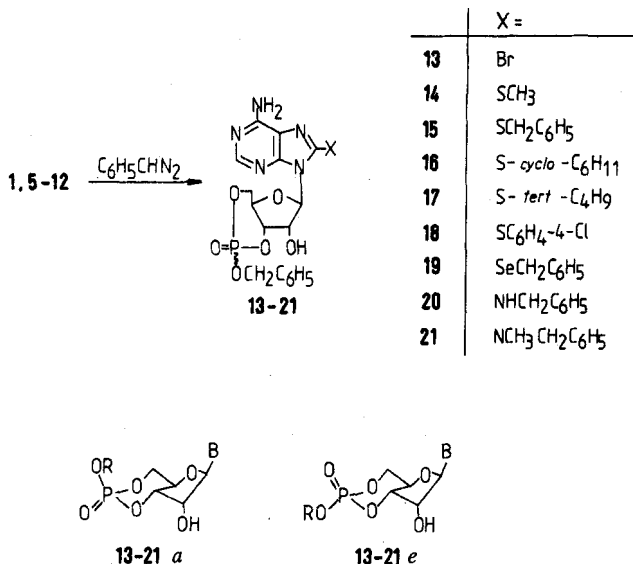
Tab. 1: Physikalische Daten der 8-substituierten cAMP-Derivate

Nr.	pK _a -Wert (in H ₂ O)	UV-Absorptionen ^{a)} λ _{max} [nm]				(in CH ₃ OH) lg ε		pH-Wert
1	3.47 (±0.1)		262			4.18		0
			264			4.16		6
						[4.05]		
2	2.91 (±0.1)	285	262	215	4.00	4.05	4.37	0
	9.07 (±0.04)		268	[257]		4.10	4.05	5
		279		210	4.18		4.47	12
3	2.18 (±0.1)	309	245	221	4.39	3.98	4.10	0
	6.86 (±0.2)	305	298	235	4.41	4.41	4.20	4
			295	226		4.35	4.30	9
4	2.09 (±0.17)	323	[250]	228	4.35	[3.90]	4.09	0
	6.28 (±0.08)	314	253		4.36	4.13		4
		303		232	4.30		4.25	9
5	3.68 (±0.1)	281			4.29			1
		278		222	4.26		4.26	7
6	3.74 (±0.1)	284			4.22			0
		283			4.16			6
7	3.37 (±0.2)	283			4.29			0
		282			4.24			6
8	3.35 (±0.1)	279			4.20			0
		284			4.18			6
9	3.20 (±0.1)	281			4.26			1
		283		222	4.21		4.40	7
10	3.58 (±0.1)	290	264		3.98	4.05		1
		290	265		3.93	3.99		7
11	0.48 (±0.04)	[280]	264	[218]	[4.04]	4.18	[4.33]	-1
	4.61 (±0.06)	278			4.21			3
		284			4.23			7
12	0.01 (±0.1)	[281]	270	[225]	[4.24]	4.29	[4.21]	-2
		280			4.28			+2
	4.28 (±0.1)	275			4.27			7

a) Werte in eckigen Klammern kennzeichnen Schultern.

Das Vorliegen von **4** als freie Selenverbindung wurde mit Hilfe von pK-Untersuchungen der analogen Sauerstoff- und Schwefelverbindung (**2** bzw. **3**) wahrscheinlich gemacht. Die Tautomerie dürfte hier wie im Fall der 2-Selenopyridine¹³⁾ auf der Seite der Selenamid-

struktur liegen. Die pK-Werte wurden bestimmt und mit denen von 8-Oxo- und 8-Thio-cAMP verglichen, wobei wie erwartet die Basizität des 7-Stickstoffes in der Reihe $O > S > Se$ abnimmt (s. Tab. 1). Die erste Ionisierungskonstante entspricht der Deprotonierung an N-1. Die Erniedrigung gegenüber Adenin ($pK_a = 4.22$)¹⁴⁾ spiegelt den Einfluß von Donorsubstituenten wider.



Die weitere Umsetzung der Di-ester **1** und **5-12** mit Phenylldiazomethan auf bekannte Weise^{3,15)} verlief glatt zu den entsprechenden Tri-estern **13-21**. **3** und **4** hingegen ergaben keine nennenswerte Ausbeute an Triester, ein größerer Überschuß an Diazoalkan lieferte schließlich geringe Mengen an *S*- oder *Se*-benzylisiertem Produkt.

Stereochemie der 1,3,2λ⁵-Dioxaphosphorinane 13-21

Die so synthetisierten Verbindungen **13-21** liegen infolge des neu entstandenen Asymmetriezentrums am Phosphor als Diastereomergemische vor. Die Trennung in axiale (*a*) und äquatoriale (*e*) Ester, bezogen auf das zugrundeliegende 1,3,2λ⁵-Dioxaphosphorinansystem, gelang dünnschichtchromatographisch. Die Zuordnung der Konfiguration erfolgte in Anlehnung an cAMP-Benzylester³⁾ mit Hilfe der ³¹P-NMR-Verschiebung. Diese δ -Werte sind, wie wir beobachtet hatten¹⁶⁾, lösungsmittelabhängig, und es ist eine Korrelation zwischen der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels und den $\Delta\delta$ -Werten zu beobachten (Tab. 2). In Dioxan und $CDCl_3$ sind die Differenzen am größten, in polaren Solventien wie DMSO und Methanol am kleinsten. In der Literatur¹⁷⁾ wird nur ein geringer Lösungsmittelleffekt für Trimethylphosphat angegeben, so daß der hier vorliegende Effekt auf unterschiedliche Solvation der starren Tri-ester schließen läßt.

Tab. 2: ^{31}P -NMR-Spektren von **18** in verschiedenen Solventien

Solvens	$\epsilon^{\text{a)}$	(a)- 18	(e)- 18	$\Delta\delta$
D ₈ Dioxan	2.2	-6.56	-3.69	2.87
CDCl ₃	4.8	-5.89	-3.77	2.12
D ₆ Aceton	20.7	-6.92	-4.94	1.98
D ₅ Pyridin	13.2	-6.06	-4.12	1.94
D ₇ DMF	36.7	-6.28	-4.50	1.78
D ₆ DMSO	46.3	-6.02	-4.24	1.78
D ₃ MeOD	32.6	-5.45	-3.98	1.47

a) ϵ = Dielektrizitätskonstante der nicht deuterierten Solventien.

Eine interessante, möglicherweise für die Strukturzuordnung der beiden Diastereomere geeignete Beobachtung machten wir in den ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **13–19**. Das Signal des Adenin-2-Protons zeigt für beide Isomere verschiedene chemische Verschiebungen, wobei das axiale Isomer stets bei höherem Feld erscheint. Kalottenmodell-Betrachtungen sowohl der axialen als auch der äquatorialen Ester machen deutlich, daß das Adenin-2-H im Fall des axialen Isomers dem abschirmenden Anisotropieeffekt der $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{O}$ -Gruppierung unterliegt. Vergleicht man die hier beobachteten $\Delta\delta$ -Werte von 0.1–0.25 ppm mit am Modell errechneten Literaturwerten für Benzol¹⁸⁾, findet man befriedigende Übereinstimmung von am Molekülmodell abgeschätzten Abständen mit den dafür zu erwartenden Abschirmungseffekten. Durch Vergleich mit dem 8-Brom-cAMP-Methylester, dessen 2-Proton für den axialen und äquatorialen Ester bei $\delta = 8.19$ liegt, konnte sichergestellt werden, daß der Phenylring der Benzylgruppe für die Verschiebung nach höherem Feld verantwortlich ist.

Ein weiterer Hinweis auf eine Vorzugskonformation der axialen Estergruppe ist die dort beobachtete Aufspaltung der sonst als breites Singulett erscheinenden aromatischen Protonen zu einem AA'BB'C-Spektrum. Voraussetzung hierfür ist das Vorliegen der Ester in der *syn*-Konformation bezüglich der glykosidischen Bindung¹⁹⁾. Die Tatsache, daß 8-substituierte Purin-Nucleoside, die einen raumerfüllenden Substituenten tragen, wahrscheinlich in der *syn*-Konformation vorliegen – d.h. der Pyrimidinring liegt über der Zuckerebene – konnte durch CD²⁰⁾, NMR²¹⁾ sowie Röntgenstrukturanalyse von 8-Bromadenosin und -guanosin²²⁾ belegt werden.

Mit den oben diskutierten ^1H -NMR-Befunden entsteht ein geschlossenes Bild vom räumlichen Aufbau der untersuchten Verbindungen. Die von uns aufgrund der ^{31}P -NMR-Spektren getroffene Unterscheidung der Tri-ester in axiale und äquatoriale wird hierdurch bestätigt. Obendrein fordern die Ergebnisse eine Vorzugs-(*syn*-)Konformation der Nucleotide. Die Frage, ob *syn*- oder *anti*-Stellung des Purinringes vorliegt, ist von nicht geringer Bedeutung für die Erkennung des cAMP durch die Proteinkinasen, wobei cAMP selbst als ein etwa 50 : 50-*syn/anti*-Gemisch vorliegt²³⁾.

Die Wirksamkeit der Ester **13–21** als cAMP-Analoga wurde am Papillarmuskel des Meerschweinchens getestet. Es ließ sich zeigen, daß die Wirkung (positiv inotrop) bei wesentlich geringerer Konzentration (μmol) erfolgt²⁴⁾ als bei den sonst üblichen Derivaten (Dibutyryl-cAMP).

Experimenteller Teil

UV-Absorptionsspektren: Cary-Recording-Spectrometer, Modell 115/15 bzw. 1115/60 Applied Physics Corp.. – **³¹P-NMR-Spektren:** Bruker-HX-90-Gerät (FT, Breitbandentkopplung, keine Suszeptibilitätskorrektur). **¹H-NMR-Spektren:** Jeol-JNM-MH-100- sowie Varian-EM-390-Gerät. – **Chromatographische Untersuchungen:** Dünnschichtfolien F 1140 LS 254 Schleicher & Schüll. **Präparative Schichtchromatographie:** Silica Gel PF 254 mit 1.5 mm Schichtdicke (Merck). *Schmp.:* unkorrt.

Die 8-substituierten cAMP-Derivate **1–3**, **5–7** sowie **9**, **11** und **12** werden in Lit.^{5,6)} beschrieben.

8-Hydroselenoadenosin-3',5'-phosphorsäure (**4**)

1.44 g (18.0 mmol) schwarzes Selen und 0.43 g (9.0 mmol) NaBH₄ werden unter Schutzgas vorgelegt und unter Eiskühlung mit 75 ml wasserfreiem Ethanol versetzt. Nach dem Abklingen der heftigen Reaktion wird solange erhitzt, bis kein Selenwasserstoff mehr entweicht. Zu 5.5 ml der obigen Lösung (0.5 mmol Na₂Se₂) gibt man nun 204 mg (0.50 mmol) **1**, gelöst in Ethanol mit 0.5 mmol NaOEt und rührt 12 h. Überschüssiges Na₂Se₂ wird kurz an der Luft oxidiert und abfiltriert, das Filtrat i. Vak. eingedampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Ansäuern mit 2 N-HCl und Trocknen über P₄O₁₀ ergibt 110 mg (55 %) gelbes, kristallines **4** vom Schmp. 222° (Zers.). C₁₀H₁₂N₅O₆PSe · H₂O (426.1) Ber. C 28.2 H 3.31 N 16.4 Gef. C 28.2 H 3.30 N 16.1.

Ammonium-8-tert-butylthioadenosin-3',5'-phosphat (**8**)

500 mg (1.20 mmol) **1** werden in 20 ml wasserfreiem Ethanol und 4.8 ml 1 M-NaOEt gelöst und einmal zusammen mit Benzol evaporiert (nicht ganz bis zur Trockne). Die anschließend auf 20 ml aufgefüllte ethanolische Lösung wird mit 2.8 ml (24 mmol) *tert*-Butylmercaptan versetzt und die violette Lösung 1 h unter Rückfluß gekocht. Dann engt man auf ein Drittel des Vol. ein, zentrifugiert ab und wäscht den Niederschlag mit Ethanol und Ether. Der Niederschlag wird in 10 ml 1 N-HCl gelöst und mit 1 N-NH₄OH auf pH 9 eingestellt, wobei ein feinkristalliner Niederschlag resultiert, der zentrifugiert und getrocknet wird (P₄O₁₀, 40°); 310 mg (57 %) **8** vom Schmp. 210° (Zers.). C₁₄H₁₉N₅O₆PS · NH₄ · 1/2 H₂O (443.4) Ber. C 38.6 H 5.55 N 19.3 Gef. C 38.3 H 5.26 N 19.0.

8-Benzylselenoadenosin-3',5'-phosphorsäure (**10**)

90 mg (0.27 mmol) Dibenzyldiselenid werden unter Schutzgas in 5 ml Ethanol suspendiert und mit 35 mg (0.9 mmol) NaBH₄ in 10 ml Ethanol, dem so viel Wasser zugesetzt ist, daß sich das Borhydrid gerade löst, versetzt. Nach 15 min Rühren bei Raumtemp. hat sich das Diselenid umgesetzt, wobei eine farblose Lösung entsteht. Nun werden 204 mg (0.50 mmol) **1**, gelöst in 1 ml 1 N-NaOH, zugegeben. Man rührt 12 h bei Raumtemp., engt auf 5 ml ein, säuert mit 1 N-HCl an und evaporiert zusammen mit Ethanol. Dann wird mit wenig Wasser extrahiert, der Rückstand in 5 ml 1 N-NH₄OH aufgenommen, abzentrifugiert, die überstehende Lösung abgetrennt und mit HCl bis pH 2 angesäuert. Ein feiner weißer Niederschlag von **10** fällt aus, der mit Wasser gewaschen wird. Die weitere Reinigung erfolgt durch SC an Kieselgel mit CH₂Cl₂/CH₃OH (6:1), wobei 103 mg (46 %) **10** vom Schmp. 215° (Zers.) isoliert werden. Die UV-Daten von **10** stimmen mit Lit.-Werten¹¹⁾ überein (s. Tab. 1).

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der cAMP-Tri-ester **13–21**

Das 8-substituierte cAMP-Derivat wird in dem angegebenen Lösungsmittel mit Hilfe eines Ultraschallbades suspendiert. Dazu wird eine frisch bereitete Lösung von Phenylldiazomethan, hergestellt aus 10 mmol 1-Benzyl-2-nitro-1-nitrosoguanidin²⁵⁾, gegeben und der Ether i. Vak. entfernt.

Dann wird bei Raumtemp. unter Lichtausschluß so lange gerührt (12 h–4 d), bis eine klare Lösung entstanden und chromatographisch kein Edukt mehr nachweisbar ist (wenn notwendig, wurde frisches Phenyldiazomethan nachgegeben). Nach Entfernen des HMPT i. Ölpumpenvak. erfolgte Chromatographie an Kieselgel, zuerst mit CH_2Cl_2 , um Verunreinigungen zu eluieren, dann mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1–5:1), um die Produktzone zu eluieren (RF-Werte s. Tab. 3). Zur Trennung der Diastereomere dienten präparative Kieselgelplatten ($40 \times 20 \times 0.15 \text{ cm}$) mit den in Tab. 3 angegebenen Lösungsmitteln; wenn notwendig, erfolgte Mehrfachentwicklung. Die eluierten Verbindungen wurden aus Dioxan gefriergetrocknet.

8-Bromadenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (13)

816 mg (2.00 mmol) **1** in 20 ml HMPT ergeben 717 mg (72 %) (a/e)–**13**; a:e = 60:40. $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrN}_5\text{O}_6\text{P} \cdot 1/2 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (542.3) Ber. C 42.1 H 3.90 N 12.9 P 5.7 (a): Gef. C 42.5 H 4.04 N 13.1 P 5.9 (e): Gef. C 42.1 H 3.85 N 12.9 P 5.5.

8-(Methylthio)adenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (14)

200 mg (0.50 mmol) **5** in 10 ml HMPT ergeben 150.5 mg (65 %) (a/e)–**14**; a:e = 54:46. $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot 1/2 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (509.5) Ber. C 47.2 H 4.75 N 13.8 P 6.1 (a): Gef. C 46.9 H 4.75 N 13.6 P 5.9 (e): Gef. C 46.7 H 4.64 N 13.6 P 6.3.

8-(Benzylthio)adenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (15)

300 mg (0.66 mmol) **6** in 15 ml Aceton ergeben 220 mg (61 %) (a/e)–**15**; a:e = 54:46. $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot 1/2 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (585.5) Ber. C 53.3 H 4.82 N 12.0 P 5.3 (a): Gef. C 53.2 H 4.64 N 12.1 P 5.3 (e): Gef. C 53.7 H 4.61 N 12.2 P 5.2.

8-(Cyclohexylthio)adenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (16)

70 mg (0.15 mmol) **7** in 20 ml Aceton ergeben 41.0 mg (51 %) (a/e)–**16**; a:e = 70:30. $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (551.6) Ber. C 50.1 H 5.48 N 12.7 P 5.6 (a): Gef. C 50.0 H 4.90 N 12.6 P 5.7 $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot \text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (639.7) Ber. C 50.8 H 5.94 N 11.0 (e): Gef. C 50.7 H 5.62 N 10.7.

8-(tert-Butylthio)adenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (17)

100 mg (0.24 mmol) **8** werden in CH_3OH mit Amberlyst 15 in die freie Säure übergeführt und direkt zu 36.3 mg (31 %) (a/e)–**17** umgesetzt; a:e = 60:40. $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot 1/2 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (551.6) Ber. C 50.1 H 5.48 N 12.7 (a): Gef. C 49.1 H 5.34 N 12.4 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot \text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (595.6) Ber. C 50.4 H 5.75 N 11.8 (e): Gef. C 50.5 H 5.72 N 11.4.

8-(4-Chlorphenylthio)adenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (18)

100 mg (0.20 mmol) **9** in 15 ml Aceton ergeben 67.8 mg (60 %) (a/e)–**18**; a:e = 66:34. $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClN}_5\text{O}_6\text{PS} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (579.9) Ber. C 47.6 H 3.99 N 12.1 P 5.3 (a): Gef. C 48.2 H 3.91 N 11.5 P 5.1 (e): Gef. C 48.4 H 3.66 N 11.5 P 5.9.

8-(Benzylseleno)adenosin-3', 5'-phosphorsäure-benzylester (19)

200 mg (0.40 mmol) **10** in 5 ml DMF ergeben 130 mg (51 %) (a/e)–**19**; a:e = 53:47. $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_6\text{PSe} \cdot 1/2 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (632.4) Ber. C 49.4 H 4.46 N 11.1 P 4.9 (a): Gef. C 49.4 H 4.42 N 11.3 P 4.9 (e): Gef. C 49.9 H 4.40 N 11.1 P 5.0.

8-(Benzylamino)adenosin-3',5'-phosphorsäure-benzylester (20)

235 mg (0.50 mmol) **11** in 20 ml HMPT ergeben 211 mg (75 %) (*a/e*)-**20**. Die dc Trennung war nicht erfolgreich. $C_{24}H_{25}N_6O_6P \cdot 2 H_2O$ (560.5) Ber. C 51.4 H 5.21 N 15.0 P 5.5 (*a/e*)-**20**: Gef. C 51.9 H 4.92 N 14.6 P 6.0.

8-(Benzylmethylamino)adenosin-3',5'-phosphorsäure-benzylester (21)

220 mg (0.5 mmol) **12** in 10 ml DMF ergeben 71.7 mg (27 %) (*a/e*)-**21**; *a:e* = 63:37. $C_{25}H_{27}N_6O_6P \cdot 1.5 CH_3OH$ (586.5) Ber. C 54.3 H 5.67 N 14.3 P 5.3 (*a*): Gef. C 54.3 H 5.05 N 14.3 P 5.3 $C_{25}H_{27}N_6O_6P \cdot H_2O$ (556.5) Ber. C 54.0 H 5.25 N 15.1 P 5.6 (*e*): Gef. C 53.4 H 5.24 N 14.6 P 6.0.

Tab. 3: Physikalische Daten der 8-substituierten Adenosin-3'.5'-phosphorsäure-benzylester **13–21**

Nr.	UV-Daten λ_{max} [nm]	(CH ₃ OH) RF-Werte ^{a)} lg ϵ	A ^{b)}	B ^{c)}	³¹ P-NMR (δ -Werte) ^{d)}	¹ H-NMR (δ -Werte, CDCl ₃) (ppm) 2-H 1'-H P-OCH ₂ ^{e)} 8-X-H			
(<i>a</i>)- 13	262	4.20	0.42	0.25	-5.15	8.04	6.02	5.20	
(<i>e</i>)- 13	262	4.20	0.36	0.18	-3.45	8.14	6.04	5.20	
(<i>a</i>)- 14	278	4.26	0.37	0.22	-5.81	8.02	5.96	5.20	2.71 (SMe)
(<i>e</i>)- 14	278	4.23	0.33	0.14	-3.66	8.17	5.96	5.17	2.73 (SMe)
(<i>a</i>)- 15	282	4.26	0.46	0.30	-5.76	8.04	5.97	5.17	
(<i>e</i>)- 15	282	4.26	0.43	0.25	-3.60	8.12	5.99	5.12	
(<i>a</i>)- 16	280	4.23	0.45	0.31	-6.04	8.02	6.10	5.19	
(<i>e</i>)- 16	280	4.22	0.41	0.25	-3.92	8.17	6.11	5.19	
(<i>a</i>)- 17	284	4.13	0.40	0.32	-5.81	8.04	6.36	5.19	1.46 (tBu)
(<i>e</i>)- 17	284	4.10	0.33	0.26	-3.70	8.17	6.37	5.10	1.45 (tBu)
(<i>a</i>)- 18	281	4.08	0.41	0.32	-5.89	8.09	6.24	5.22	
(<i>e</i>)- 18	282	4.07	0.36	0.26	-3.77	8.23	6.21	5.20	
(<i>a</i>)- 19	282	4.14	0.41	0.30	-6.06	8.03	5.93	5.18	
(<i>e</i>)- 19	282	4.08	0.31	0.25	-3.76	8.20	5.95	5.18	
(<i>a</i>)- 20	273	4.22	0.35	0.22	-5.35	7.89	5.83	5.20	
(<i>e</i>)- 20	273	4.22	0.31	0.15	-3.71	8.05	5.82	5.17	
(<i>a</i>)- 21	272	4.29	0.41	0.28	-5.89	8.02	6.04	5.24	2.87 (NMe)
(<i>e</i>)- 21	272	4.28	0.38	0.17	-3.74	8.13	6.04	5.18	2.85 (NMe)

^{a)} Kieselgel-Fertigfolien F 1440 LS 254 Schleicher & Schüll.

^{b)} A = Methylenchlorid/Methanol (10:1).

^{c)} B = 1,2-Dichlorethan/Ethanol (9:1).

^{d)} Gemessen in CDCl₃; 85proz. H₃PO₄ als ext. Stand.

^{e)} Die CH₂-Protonen erscheinen als Dublett (J=8–10 Hz) infolge Kopplung mit ³¹P.

Literatur

- 1 7. Mitt.: J. Engels, *Bioorg. Chem.* 8, 9 (1979).
- 2 L.N. Simon, D.A. Shuman und R.K. Robins, *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 3, 225 (1973); J.P. Miller in *Cyclic 3',5'-Nucleotides: Mechanism of Action*, Ed. H. Cramer und J. Schultz, S. 77, Wiley, London 1977.
- 3 J. Engels und E.J. Schlaeger, *J. Med. Chem.* 20, 907 (1977).
- 4 M. Korth und J. Engels, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 310, 103 (1979).
- 5 J.P. Miller, K.H. Boswell, R.B. Meyer jr., L.F. Christensen und R.K. Robins, *J. Med. Chem.* 23, 242 (1980).
- 6 G. Michal, K. Mühlegger, M. Nelböck, C. Tiessen und G. Weiman, *Pharmacol. Res. Commun.* 6, 203 (1974).
- 7 B. Jastorff, J. Hoppe und M. Morr, *Eur. J. Biochem.* 101, 555 (1979).
- 8 J. Hoppe und K.G. Wagner, *Trends Biochem. Sci.* 4, 282 (1979).
- 9 K. Muneyama, R.J. Bauer, S.A. Shuman, R.K. Robins und L.N. Simon, *Biochemistry* 10, 2390 (1971).
- 10 E. Fischer, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 215, 253 (1882).
- 11 S. Chu, C. Shiue und M. Chu, *J. Med. Chem.* 17, 406 (1974).
- 12 D.L. Klayman und T.S. Griffin, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 197 (1973).
- 13 H.G. Mautner, S. Chu und C.M. Lee, *J. Org. Chem.* 27, 3671 (1962).
- 14 A. Albert und D.J. Brown, *J. Chem. Soc.* 1954, 2060.
- 15 J. Engels und J. Hoftiezer, *Chem. Ber.* 110, 2019 (1977).
- 16 J. Engels, vorgetragen 3^{ème} Table Ronde, Montpellier, 4.-6.10.78, *Nucleosides, Nucleotides et Applications Biologiques*.
- 17 R.A.Y. Jones und A.R. Katritzky, *Angew. Chem.* 74, 60 (1962); *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1, 32 (1962).
- 18 C.W. Haigh und R.B. Mallion, *Org. Magn. Reson.* 4, 203 (1972).
- 19 C. Altona und M. Sundaralingam, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 2333 (1973).
- 20 M. Ikehara, S. Uesugi und K. Yoshida, *Biochemistry* 11, 830 (1972).
- 21 M.P. Schweizer und R.K. Robins in *Conformation of Biological Molecules and Polymers*, Ed. E.E. Bergman und B. Pullman, Vol. 5, S. 329, Israel Acad. Sci. Humanities, Jerusalem 1973.
- 22 S.S. Tavale und H.M. Sobell, *J. Mol. Biol.* 48, 109 (1970).
- 23 J.N. Lespinasse und D. Vasilescu, *Biopolymers* 13, 66 (1974); F. Hayashi, K. Akasaka und H. Hatano, *J. Magn. Reson.* 27, 419 (1977).
- 24 M. Korth und J. Engels, *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, im Druck.
- 25 B. Eistert, M. Regitz, G. Heck und H. Schwall in *Methoden der Organischen Chemie*, Houben-Weyl-Müller, 4. Aufl., Bd. X/4, S. 543, Thieme, Stuttgart 1968.