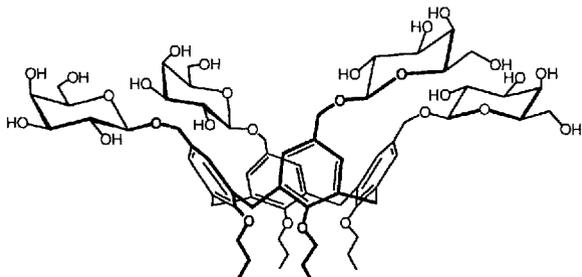


12



13

galactosid **13** bei Raumtemperatur in Wasser (bis zu 5 mM Lösung).

Wir haben hier also zwei Wege für das Anbringen von Zuckereinheiten an den Rändern von Calix[4]arenen beschrieben. Die resultierenden Zuckercalixarene sollten, genauso wie andere auf diese Art erhaltene Verbindungen, einen Zugang zur molekularen Erkennung polarer chiraler Substrate, speziell von Kohlenhydraten, sowohl in Wasser als auch in organischen Medien eröffnen.

Eingegangen am 30. Juni 1994 [Z 7087]

- [1] R. U. Lemieux, *Chem. Soc. Rev.* **1989**, 18, 347; F. A. Quijcho, *Pure Appl. Chem.* **1989**, 61, 1293; N. Sharon, H. Lis, *Chem. Br.* **1990**, 679.
- [2] *Design and Synthesis of Organic Molecules Based on Molecular Recognition* (Hrsg.: G. van Binst), Springer, Berlin, **1986**; *Host-Guest Molecular Interactions: from Chemistry to Biology* (Ciba Found. Symp. **1991**, 158).
- [3] S. S. Yoon, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 823, zit. Lit.
- [4] Y. Aoyama, Y. Tanaka, S. Sugahara, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 5397; F. Diederich in *Cyclophanes, Monographs in Supramolecular Chemistry, Vol. 2* (Hrsg.: J. F. Stoddart), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1991**.
- [5] R.-P. Bonar-Law, A. P. Davis, B. A. Murray, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 1497; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 1407.
- [6] J. M. Coterón, C. Vicent, C. Bosso, S. Penadés, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 10066.
- [7] C. D. Gutsche in *Calixarenes, Monograph in Supramolecular Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: J. F. Stoddart), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1989**; *Calixarenes, a Versatile Class of Macrocyclic Compounds* (Hrsg.: J. Vicens, V. Böhrner), Kluwer, Dordrecht, **1991**.
- [8] S. Shinkai, S. Mori, H. Koreishi, T. Tsubaki, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2409; P. D. Beer, C. A. P. Dickson, N. Fletcher, A. J. Goulden, A. Grieve, J. Hodacova, T. Wear, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 828; L. Zhang, A. Macias, T. Lu, J. I. Gordon, G. W. Gokel, A. E. Kaifer, *ibid.* **1993**, 1017; R. Ungaro, A. Arduini, A. Casnati, O. Ori, A. Pochini, F. Ugozzoli, *Computational Approaches in Supramolecular Chemistry (NATO ASI Ser. Ser. C* **1994**, 371, 277).
- [9] Y. Shi, Z. Zhang, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 375.
- [10] O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1.
- [11] Über O-Glycosylierungen von Phenolen durch die Mitsunobu-Reaktion wurde berichtet: G. Gryniewicz, *Carbohydr. Res.* **1977**, 53, c11; A. Lubineau, E. Meyer, P. Place, *ibid.* **1992**, 228, 191.
- [12] O. T. Schmidt, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 318.
- [13] Dies stimmt mit der bekannten Inversion der Konfiguration sekundärer Alkohole in der Mitsunobu-Reaktion überein. Siehe Lit. [10].
- [14] A. Casnati, A. Arduini, E. Ghidini, A. Pochini, R. Ungaro, *Tetrahedron* **1991**, 47, 2221.
- [15] C. Jaime, J. de Mendoza, P. Prados, P. M. Nieto, C. Sanchez, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 3372.
- [16] Synthese von **5** nach T. Itoh, H. Takamura, K. Watanabe, Y. Araki, Y. Ishido, *Carbohydr. Res.* **1986**, 156, 241.
- [17] Reaktion mit 1.1 Äquivalenten **5** ergab ein 3:1-Gemisch aus α - und β -Monoglucosiden (60%) sowie eine Mischung aus α , α - und α , β -Bisglucosiden (20%).

Ein Versuch, die α - und β -Monoaddukte durch HPLC zu trennen, war nicht erfolgreich.

- [18] Die vier axialen Protonen der Methylenbrücken in **8** sind zufällig isochron, während das desacetylierte Derivat **9** deutlich getrennte Signale lieferte.
- [19] Weder von **10** noch vom desacetylierten Derivat **11** wurden für eine kristallographische Untersuchung geeignete Kristalle erhalten.
- [20] Synthese von **2** aus **1** in 25% Ausbeute nach A. Arduini, A. Casnati, M. Fabbi, P. Minari, A. Pochini, A. R. Sicuri, R. Ungaro, *Supramol. Chem.* **1993**, 1, 235.
- [21] Für Übersichtsartikel zu Glycosylierungen siehe H. Paulsen, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 184; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 155; K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1503.
- [22] Z. Pakulsky, D. Pierozynski, A. Zamojsky, *Tetrahedron* **1994**, 50, 2975. **6** wurde von uns durch quantitative Perbenzoylierung von Ethyl-1-thio- β -D-galactopyranosid hergestellt.
- [23] Für Übersichtsartikel zu Thioglycosiden siehe P. Fügedi, P. J. Garegg, H. Löhn, T. Norberg, *Glycoconjugate J.* **1987**, 4, 97; P. Sinaÿ, *Pure Appl. Chem.* **1991**, 63, 519.
- [24] **3** wurde aus **1** durch Formylierung (T. Komori, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1992**, 901) und anschließende Reduktion mit NaBH₄ in Ethanol in einer Gesamtausbeute von 90% hergestellt.

Eine kurze Synthese von [3-¹⁵N]-3'-Azido-3'-desoxythymidin (N3-markiertes AZT) über 3-Nitro-AZT**

Xavier Ariza, Valentí Bou, Jaume Vilarrasa*, Valya Tereshko und J. Lourdes Campos

¹⁵N-markierte Nucleoside sind sehr nützlich, um Erkenntnisse über die Struktur von Nucleinsäuren, über die Bindung von Wirkstoffen und über Nucleinsäure-Protein-Wechselwirkungen zu gewinnen^[1]. Nach ihrem Einbau in DNA- und RNA-Fragmente können die Änderungen der ¹⁵N-H-Bindungen bei der Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen oder in Protonierungs-/Deprotonierungsgleichgewichten direkt und elegant ¹H- oder ¹⁵N-NMR-spektroskopisch verfolgt werden. Unter diesem Aspekt berichten wir hier am Beispiel der Synthese von 3'-Azido-3'-desoxythymidin (AZT) **1**, einem weithin bekannten Nucleosid^[2], über eine neue, milde Methode zur N3-Markierung von Thymidinen und Uridinen. Die Vorschrift, die auf das Produkt jeder Pyrimidinnucleotidsynthese angewendet werden kann, beruht auf einer selektiven N-Nitrierung und der Substitution des gebildeten Nitramins durch ¹⁵NH₃^[3].

Zwar ist bekannt, daß Pyrimidinnucleoside je nach Substrat und Reaktionsbedingungen an einem O-Atom des Zuckers und/oder an C5 nitriert werden können^[4], doch wurde bislang nicht über die N-Nitrierung von Pyrimidinen berichtet. Um eine milde N-Nitrierung zu erreichen und die Hydrolyse des Nucleosides und die Abspaltung von Schutzgruppen zu vermeiden, nutzten wir unsere Erfahrungen bei der Nitrierung von Amiden unter milden Bedingungen^[5]. So schützten wir die Hydroxygruppe in AZT **1**^[6] mit einer geeigneten Gruppe und setzten das Produkt **2** mit Salpetersäure-trifluoressigsäure-anhydrid (Nitro-

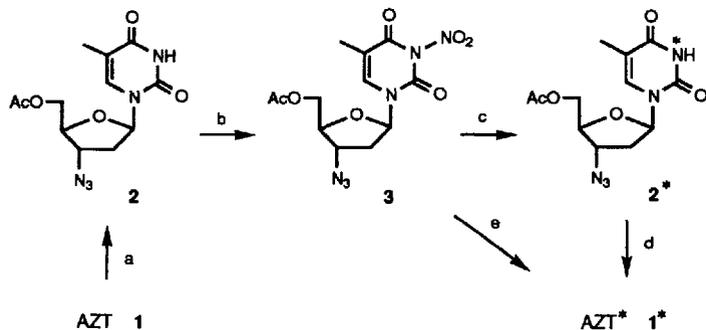
[*] Prof. J. Vilarrasa, X. Ariza, Dr. V. Bou
Departament de Química Orgànica, Universitat de Barcelona
E-08028 Barcelona (Katalonien, Spanien)
Telefax: Int. + 3/339-7878

Dr. V. Tereshko^[+], Dr. J. L. Campos^[+]
Departament d'Enginyeria Química, Universitat Politècnica
E-08028 Barcelona (Katalonien, Spanien)

[+] Kristallstrukturanalyse

[**] Diese Arbeit wurde von der Dirección General de Investigación Científica y Técnica (Grants PB86-0137 und PB89-0277 an die Universitat de Barcelona sowie Grant PB90-0605 für V. T. und J. L. C.) gefördert; V. B. und X. A. danken dem Ministerio de Educación y Ciencia für Stipendien.

niumtrifluoracetat), das in situ aus entsprechenden Mengen NH_4NO_3 und $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ in CH_2Cl_2 hergestellt wurde, zur *N*-Nitro-Verbindung **3** um, die in 90% Ausbeute bezogen auf umgesetztes Ausgangsmaterial erhalten wurde (81% isolierte Ausbeute, Schema 1).



Schema 1. a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$, 20°C (96%); b) $\text{NO}_2\text{OCOCF}_3$, CH_2Cl_2 , 0°C (90%); c) $^*\text{NH}_3$ (d. h. $^{15}\text{NH}_3$), $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 20°C (67%); d) konz. NH_3 , MeOH , 20°C (95%); e) c und d in einer Eintopfreaktion (75%).

5'-*O*-Acetyl-3'-azido-3'-desoxy-3-nitrothymidin **3** wurde durch die Abwesenheit des NH-Signals im ^1H -NMR-Spektrum und durch die starke Verschiebung der Signale für C2 und C4 ($\Delta\delta = -5$ bzw. $\Delta\delta = -8$) im ^{13}C -NMR-Spektrum im Vergleich zu denen im ^{13}C -NMR-Spektrum von **2** identifiziert. Um die Struktur zu erhärten, versuchten wir, **3** zu kristallisieren, erhielten aber nur einen amorphen Festkörper. 3',5'-Di-*O*-acetyl-3-nitrothymidin **4**, das analog in hoher Ausbeute aus Thymidin hergestellt wurde, gab gute Kristalle aus Aceton/Hexan. Die Kristallstrukturanalyse von **4** ergab, daß die Moleküle im Kristall in zwei unterschiedlichen Konformationen vorliegen (Abb. 1)^[7], die sich lediglich signifikant in den Torsionswinkeln

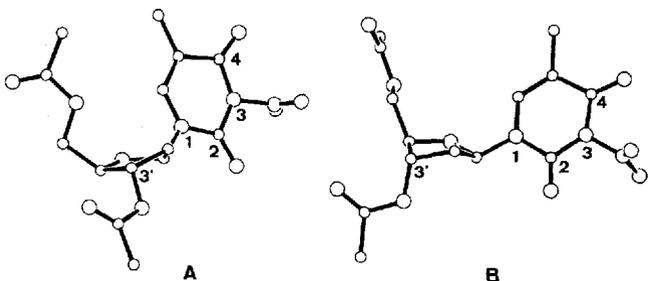


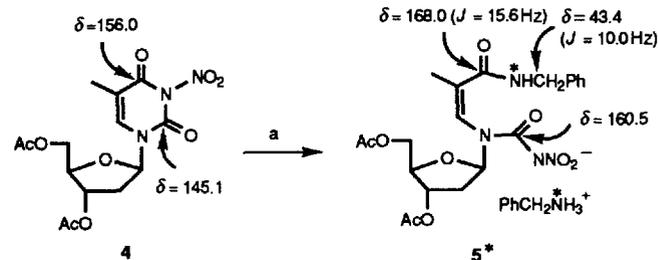
Abb. 1. Die Molekülstruktur von 3',5'-Di-*O*-acetyl-3-nitrothymidin **4** im Kristall (die Wasserstoffatome wurden der Übersicht halber weggelassen); die Verbindung liegt in zwei Konformationen **A** und **B** vor (beide C2'-*endo*/C3'-*exo*). Ausgewählte Bindungslängen [Å] und Winkel [°]: A: C2-O 1.183(9), C2-N3 1.40(1), N3-NO₂ 1.48(1), N3-C4 1.40(1), C4-O 1.20(1); N1-C2-N3 110.5(6), O2-C2-N1 125.8(7), O2-C2-N3 123.6(7), C2-N3-C4 131.3(6), N3-C4-O4 120.6(8), C5-C4-O4 128.3(8), O-N-O 129.9(9); die Werte für **B** sind fast identisch.

unterschieden, an denen der 5'-Substituent beteiligt ist, besonders im *O*-C5'-C4'-*O*-Diederwinkel. Die NO₂-Gruppe steht senkrecht zur Ebene des Stickstoffheterocyclus, was wegen der Nähe der beiden CO-Gruppen auch zu erwarten war.

Durch Rühren einer Lösung von **3**, $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ und KOH in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ bei Raumtemperatur in einem geschlossenen Gefäß wurde in einer milden Reaktion eine im Vergleich zu **3** deutlich polarere Verbindung gebildet (DC), die sich nach einigen Tagen in eine neue Verbindung umgewandelt hatte. Diese war mit **2** bis auf das Auftreten von ^1H - ^{15}N - und ^{13}C - ^{15}N -Kopp-

lungen in den NMR-Spektren identisch. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel wurden die markierte Verbindung **2*** in einer Ausbeute von 67% und geringe Mengen an dem desacetylierten Produkt **1*** erhalten. Das protonengekoppelte ^{15}N -NMR-Spektrum von **2*** zeigt das erwartete Dublett mit $|^1J(\text{H},^{15}\text{N})| = 90.9$ Hz bei $\delta = -212.6$, bezogen auf externe konzentrierte H^{15}NO_3 . Die Abspaltung der Schutzgruppe von **2*** unter Standardbedingungen mit konzentrierter Ammoniaklösung in Methanol oder mit MeOH/HCl gab $[3\text{-}^{15}\text{N}]\text{AZT}$ **1*** in fast quantitativen Ausbeuten ($|^1J(\text{H},^{15}\text{N})| = 91.0$, $|^1J(\text{C}2,^{15}\text{N})| = 17.3$ und $|^1J(\text{C}4,^{15}\text{N})| = 9.9$ Hz). Verbindung **1*** kann auch in einer Eintopfreaktion aus **3** gewonnen werden (siehe Schema 1), indem man gegen Ende der Markierungsreaktion eine Mischung aus wäßrigem Ammoniak und MeOH (1/1) zugibt (Gesamtausbeute 75%).

Um Aufschluß über den Mechanismus der Reaktion der Nitro-Derivate **3** und **4** mit Ammoniak, die wahrscheinlich Ringöffnung und Ringschluß umfaßt, zu gewinnen, versuchten wir, die polaren Zwischenprodukte NMR-spektroskopisch zu charakterisieren. Mit Benzylamin statt Ammoniak wurden kinetisch stabile Zwischenstufen erhalten, deren Strukturen aufgeklärt werden konnten. Setzten wir **3** oder **4** bei 20°C mit Benzylamin in CDCl_3 um – mindestens zwei Äquivalente Benzylamin waren für einen vollständigen Umsatz notwendig –, konnten wir in beiden Fällen tatsächlich lediglich die Bildung einer polaren Verbindung feststellen, die unter den Versuchsbedingungen nicht cyclisierte. Nachdem wir mit ^1H - ^{13}C -2D-NMR-Messungen die Zuordnung der Kohlenstoffatome in **4** und in dem entsprechenden offenkettigen Derivat **5** bestimmt hatten, verfolgten wir ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR-spektroskopisch die Reaktion zwischen **4** und ^{15}N -markiertem Benzylamin unter Bildung der markierten Verbindung **5*** (Schema 2). Die CO-Grup-



Schema 2. a) $\text{PhCH}_2^*\text{NH}_2$, CDCl_3 , 20°C .

pe von **5***, die dem C2 des Thymidinrings entspricht, gibt bei $\delta = 160.5$ ein Singulett, während das Signal der CO-Gruppe von **5***, die dem C4 entspricht, bei $\delta = 168.0$ eine typische $^1J(\text{C},^{15}\text{N})$ -Aufspaltung aufweist. Dies bedeutet, daß der Angriff des Benzylamins (und vermutlich auch des Ammoniaks) an 3-Nitrothymidinen hauptsächlich an der C4-Position stattfindet.

Experimentelles

3: 0.560 mL (4.0 mmol) Trifluoressigsäureanhydrid wurde zu einer Suspension von 160 mg (2.0 mmol) fein zerriebenem NH_4NO_3 in 5 mL wasserfreiem CH_2Cl_2 bei 0°C unter Argon zugegeben. Die Mischung wurde heftig bei Raumtemperatur gerührt, bis der Feststoff gelöst war (ca. 1 h), und dann wieder auf 0°C abgekühlt. Verbindung **2** (309 mg, 1.0 mmol) wurde zugefügt und 1 h bei 0°C gerührt. Nach Zugabe von weiterem Lösungsmittel wurde das Reaktionsgemisch mit einer kalten Phosphatpufferlösung gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Das Produkt war fast rein und nur mit geringen Mengen an Ausgangsverbindung verunreinigt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Flash-Chromatographie) mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98/2) wurde reines **3** (287 mg, 81%) erhalten; mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95/5) ließen sich anschließend 32 mg (10%) **2** zurückgewinnen. – Schmp. $81-83^\circ\text{C}$ ($\text{AcOEt}/\text{Hexan}$); ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.00$ (d, $J(\text{Me},6) = 1.2$ Hz, 3H; Me), 2.14 (s, 3H; MeCO), 2.36–2.62 (m, 2H; H2', H2''), 4.08–4.44 (m,

