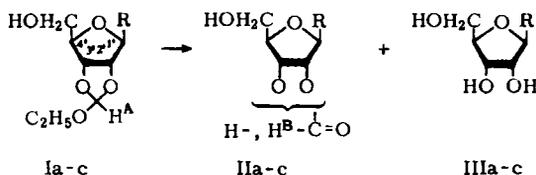


FRITZ ECKSTEIN und FRIEDRICH CRAMER
 Notiz über 2'.3'-O-Äthoxymethylen-Derivate
 von Ribonucleosiden

Aus der Chemischen Abteilung der Medizinischen Forschungsanstalt der
 Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen

(Eingegangen am 18. September 1964)

Bei der Darstellung von Benzylidenderivaten der Ribonucleoside mit Orthoameisensäureester¹⁾ als Kondensationsmittel beobachteten wir im Dünnschichtchromatogramm stets in größeren Mengen Verbindungen, die sich als identisch mit den 2'.3'-Äthoxymethylen-Derivaten der Nucleoside (I) erwiesen; die Verbindungen lassen sich aus Nucleosid und Tri-äthylorthoformiat unter Säurekatalyse leicht in guter Ausbeute direkt herstellen. Da inzwischen auch von anderer Seite^{2,3)} Äthoxymethylen-Derivate von Nucleosiden beschrieben worden sind, möchten wir kurz über unsere eigenen Erfahrungen mit diesen Verbindungen berichten.



a: R = Adenyl- b: R = Uracilyl- c: R = Cytosyl-

Die Verbindungen I lassen sich von Adenosin, Uridin und Cytidin in guter Ausbeute darstellen. Sie können in 5'-Stellung zu den entsprechenden Mono-*p*-methoxy-trityl-Derivaten umgesetzt werden.

Wie von ZEMLICKA²⁾ beschrieben, sind die Äthoxymethylen-Derivate in konz. Ammoniak sehr stabil, werden aber von verd. Säuren, wie auch von REESE³⁾ berichtet, leicht hydrolysiert. Führt man diese Hydrolyse in verd. Essigsäure bei Raumtemperatur durch, so ist zwar das Ausgangsmaterial nach einiger Zeit verschwunden, die Hydrolyseprodukte sind aber nicht, wie beschrieben, einheitlich, sondern ein Gemisch von 2 Verbindungen; es entstehen nebeneinander die unsubstituierten Nucleoside III und die Nucleosidformiate II. Die Verbindungen II lassen sich durch Behandeln mit konz. Ammoniak oder durch längeres Kochen mit Methanol^{4,5)} in die unsubstituierte Nucleoside überführen, wie man papierchromatographisch und NMR-spektroskopisch durch das Verschwinden des für ein Formiatproton charakteristischen

1) S. CHLADECK und J. SMRT, Collect. czechoslov. chem. Commun. **28**, 1301 [1963].

2) J. ZEMLICKA, Chem. and Ind. **1964**, 581.

3) C. B. REESE und J. E. SULLSTON, Proc. chem. Soc. [London] **1964**, 214.

4) J. SMRT und S. CHLADECK, Collect. czechoslov. chem. Commun. **29**, 214 [1964].

5) F. CRAMER, H. P. BÄR, H. J. RHAESE, W. SAENGER, K. H. SCHEIT, G. SCHNEIDER und J. TENNIGKEIT, Tetrahedron Letters [London] **16**, 1039 [1963].

Signals bei ca. 8.0 ppm⁶⁾ sehen kann. Da eine präparative Trennung der Formiate II von den unsubstituierten Nucleosiden III schwierig ist, haben wir den Gehalt an Formiat (Gemisch der 2'- und 3'-Isomeren) im Hydrolysegemisch durch Integration der NMR-Spektren bestimmt. Er beträgt unter unseren Hydrolysebedingungen bei Adenosin 18, Uridin 64 und Cytidin 55%.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Darstellung der Äthoxymethylen-Derivate Ia–c: 3.0 mMol des gefriergetrockneten Nucleosids (III a–c) und 1.3 g Trichloressigsäure (8.0 mMol) werden nach Zugabe von *Orthoameisensäure-triäthylester* (für Ia und Ic 9.0 mMol, für Ib 6.0 mMol) in 10–20 ccm trockenem Dioxan gelöst. Reaktionszeit bei 50° für Ia 180, Ib 75 und Ic 120 Min. Zur Aufarbeitung verdünnt man mit ca. 700 ccm Chloroform (Ia) oder Essigsäure-äthylester (Ib), wäscht mit NaHCO₃-Lösung und Wasser und dampft nach Trocknen über Na₂SO₄ ein. Zur Aufarbeitung von Ic gibt man die Reaktionslösung über eine Ionenaustauschersäule (Merck II, schwach basischer Anionenaustauscher), die mit Dioxan vorher gründlich gewaschen wurde, und dampft das Eluat ein.

Man erhält so die chromatographisch reinen *Äthoxymethylen-Derivate* mit 70–80% Ausb. Nur Ia kristallisiert (aus Äthanol), Schmp. 226–228° (Lit.²⁾: 177–182°).

C₁₃H₁₇N₅O₅ (323.2) Ber. C 48.30 H 5.28 N 21.67 Gef. C 48.79 H 5.44 N 21.11

R_F-Werte⁷⁾: Ia 0.61, Ib 0.63, Ic 0.51.

5'-O-[Mono-p-methoxy-trityl]-2'.3'-O-äthoxymethylen-nucleoside: Nach bekannten Methoden⁸⁾ kann man die Verbindungen I in die Mono-p-methoxy-trityl-Derivate überführen und erhält nach Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform *N⁶-5'-O-Bis-[mono-p-methoxy-trityl]-2'.3'-O-äthoxymethylen-adenosin*, Ausb. 85%, λ_{max} 274 mμ (log ε 4.35), R_F⁹⁾ 0.47.

C₅₃H₄₉N₅O₇·H₂O (885.9) Ber. C 71.85 H 5.80 N 7.90 Gef. C 71.49 H 5.96 N 7.70

N⁴-5'-O-Bis-[mono-p-methoxy-trityl]-2'.3'-O-äthoxymethylen-cytidin, Ausb. 38%, λ_{max} 273 mμ (log ε 4.16), R_F⁹⁾ 0.17.

C₅₂H₅₀N₃O₈·H₂O (864.9) Ber. C 72.20 H 6.04 N 4.86 Gef. C 72.60 H 5.90 N 4.85

5'-O-[Mono-p-methoxy-trityl]-2'.3'-O-äthoxymethylen-uridin, Ausb. 81%, λ_{max} 259, 232 mμ (log ε 4.00, 4.20), R_F⁹⁾ 0.16.

C₃₂H₃₂N₂O₈·H₂O (590.5) Ber. C 65.07 H 5.46 N 4.74 Gef. C 65.32 H 5.80 N 4.95

Saure Hydrolyse der 2'.3'-O-Äthoxymethylen-nucleoside: Die vollständige Hydrolyse der Verbindungen I in 80-proz. Essigsäure (1-proz. Lösung) erfordert bei Ia 10, Ib 1.5 und Ic 1.5 Stdn. Die R_F-Werte⁷⁾ für die Hydrolysegemische betragen bei Ia 0.24, 0.36; Ib 0.27, 0.40; und Ic 0.13, 0.24. Der niedrigere R_F-Wert ist jeweils der Wert des unsubstituierten Nucleosids III, der höhere der des Formiats II.

Die Formiate II werden mit konz. Ammoniak/Dioxan augenblicklich und beim Kochen mit Methanol bei IIa und IIc innerhalb von 4.0 Stdn. sowie bei IIb innerhalb von 2.5 Stdn. vollständig hydrolysiert. Der Gehalt an Formiat bei der sauren Hydrolyse (Reaktion I → II + III) wurde durch Integration der NMR-Spektren¹⁰⁾ bestimmt. Bei den Pyrimidinnucleosiden

6) NMR-Spectra Catalogue, Varian Associates, Palo Alto, Calif., 1962.

7) In mit Wasser gesättigtem Butanol als Laufmittel; Papier Schleicher & Schüll 2043 b, gewaschen.

8) H. SCHALLER, G. WEIMANN, B. LERCH und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. **85**, 3821 [1963].

9) R_F-Werte bei Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel (Merck); Laufmittel Chloroform.

10) L. GATLIN und J. C. DAVIS, J. Amer. chem. Soc. **84**, 4464 [1961].

verglichen wir die Intensität des Formiatprotons H^B mit der Intensität des Protons H^6 des Pyrimidinkernes. Da in Dimethylsulfoxylösung bei Adenosin das Signal des Formiatprotons H^B zusammenfällt mit dem Signal des Protons H^8 des Purinkernes, wurde die Intensität der Summe ($H^B + H^8$) verglichen mit der Intensität des Protons H^2 des Purinkernes.

$$\text{Dabei ergibt sich für das Adenosin } \frac{(H^B + H^8)}{H^2} = \frac{3.8}{3.1} = 18\%$$

$$\text{das Cytidin } \frac{H^B}{H^6} = \frac{1.10}{2.00} = 55\%$$

$$\text{das Uridin } \frac{H^B}{H^6} = \frac{3.5}{5.5} = 64\%$$

Die Tab. gibt die Positionen der einzelnen Protonen in den NMR-Spektren wieder.

NMR-Zuordnungen der substituierten Nucleoside. Lösungsmittel Dimethylsulfoxyd; Werte in ppm, bez. auf Tetramethylsilan als inneren Standard; *J*-Werte in Hz in Klammern; Gerät Varian A 60

| Verbindung | H^A | H^B | $H^{1'}$ | H^5 | H^6 |
|------------|-------|-------|---------------|---------------|---------------|
| Ia | 6.15 | — | 6.34 (4.0) | — | — |
| IIa | — | 7.37 | 5.94 (4.0) | — | — |
| +IIIa | | | | | |
| Ib | 6.10 | — | 6.02 (3.0) | 5.68 (8.2) | 7.80 (8.2) |
| IIb | — | 7.32 | 5.89 | 5.75 | 7.90 |
| +IIIb | | | | (8.2) | (8.2) |
| Ic | 364 | — | 5.89 (2.5) | 5.79 (7.3) | 1.72 (7.3) |
| IIc | — | 7.32 | 5.83 | 5.82 | 7.85 |
| —IIIc | | | (2.5) | (7.3) | (7.3) |