

Frieder W. Lichtenthaler und Hans Peter Albrecht\*)

Nucleoside, III<sup>1)</sup>

## Synthese von 3-Nitro- und 3-Amino- $\beta$ -D-glucopyranosyl-thymin

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt

(Eingegangen am 20. Dezember 1966)

Perjodatoxydation von 3- $\beta$ -D-Glucopyranosyl]-thymin und anschließende Nitromethan-Cyclisierung führt zu einem Gemisch von 3-[3-Nitro-3-desoxy-hexopyranosyl]-thyminen, aus dem durch Schichtchromatographie das *gluco*-Isomere **3** abgetrennt wurde. Katalytische Hydrierung liefert 3-[3-Amino-3-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-thymin (**5**). Die Konfigurationszuordnung ergab sich aus NMR-spektroskopischen Daten des Tri- und Tetraacetats (**6** bzw. **4**).

Nachdem einige Thymin-Nucleoside in Ribonucleinsäuren sowie karibischen Schwammarten<sup>2)</sup> vorkommen, hat die chemische Synthese dieser Verbindungen großes Interesse gefunden. So sind im Verlaufe des letzten Jahrzehnts eine beträchtliche Zahl von 1-Glykosyl-thyminen dargestellt worden.

Neben einer Vielzahl von Synthesemöglichkeiten, die für die natürlichen Produkte Thymidin<sup>3-5)</sup>, Ribothymidin<sup>3,5-8)</sup> und Spongthymidin<sup>9-12)</sup> entwickelt wurden, sind Pentofuranosyl-thymine der D-Xylose<sup>6-13)</sup>, 2-Desoxy-D-xylose<sup>14)</sup>, D-Xylose<sup>11,13)</sup> und 2-Desoxy-L-

\*) Teil der Dissertat. H. P. Albrecht, Techn. Hochschule Darmstadt, 1967.

1) II. Mittel.: F. W. Lichtenthaler, T. Nakagawa und J. Yoshimura, Chem. Ber. **100**, 1833 (1967), vorstehend. — Zugleich VII. Mittel. der Reihe „Nitromethan-Kondensation mit Dialdehyden“.

2) J. J. Fox und J. Wempen, Advances Carbohydrate Chem. **14**, 283 (1959).

3) D. M. Brown, D. B. Parihar, C. B. Reese und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] **1958**, 3035.

4) G. Shaw und N. Yung, J. chem. Soc. [London] **1959**, 50; M. Hoffer, R. Duschinsky, J. J. Fox und N. Yung, J. Amer. chem. Soc. **81**, 4112 (1959); M. Prystas, J. Farkas und F. Šorm, Collect. czechoslov. Chem. Commun. **28**, 3140 (1963).

5) E. Wittenburg, Z. Chem. **4**, 303 (1964).

6) J. J. Fox, N. Yung, J. Davoll und G. B. Brown, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2117 (1956).

7) J. P. Scannel und F. W. Allen, J. org. Chemistry **25**, 2143 (1960).

8) 8a) T. Nishimura, B. Shimizu und I. Iwai, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **11**, 1470 (1963), C. A. **60**, 10769 (1964); 8b) ebenda **12**, 1471 (1964), C. A. **62**, 9223 (1965).

9) J. J. Fox, N. Yung und A. Bendich, J. Amer. chem. Soc. **79**, 2775 (1957).

10) E. J. Reist, J. H. Osiecki, L. Goodman und B. R. Baker, J. Amer. chem. Soc. **83**, 2208 (1961).

11) T. Nishimura und B. Shimizu, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **13**, 803 (1965), C. A. **63**, 13388 (1965).

12) F. Keller und A. R. Tyrrell, J. org. Chemistry **31**, 1289 (1966).

13) J. J. Fox, J. F. Codington, N. C. Yung, L. Kaplan und J. O. Lampen, J. Amer. chem. Soc. **80**, 5155 (1958).

14) A. M. Michelson und A. R. Todd, J. chem. Soc. [London] **1955**, 816.

ribose<sup>15)</sup> dargestellt worden, ebenso wie einige Pyranosyl-Analoga mit D-Ribose<sup>6,16-19)</sup>, 2-Desoxy-D-ribose<sup>20)</sup>, D-17,<sup>19)</sup> und L-Arabinose<sup>6,17)</sup> und D-Xylose<sup>6,16,18)</sup> im Zuckerteil.

Auch sind eine Reihe von Hexopyranosyl-thyminen synthetisiert worden, so die sich von Glucose<sup>5, 6, 8a, 17, 19, 21)</sup>, 2-Desoxy-<sup>22)</sup> und 4-Desoxy-glucose<sup>23)</sup>, Galaktose<sup>5,17)</sup>, 2-Desoxy-allose<sup>24)</sup>, L-Rhamnose<sup>25)</sup> und Digitoxose<sup>26)</sup> ableitenden Thymin-Nucleoside.

Von Thymin-Nucleosiden, die sich von Aminozuckern ableiten, sind bisher nur die als Puromycin-Analoga interessanten Pentofuranosyl-thymine der 5-Amino-5-desoxy-<sup>26)</sup>, 3-Amino-3-desoxy-<sup>26)</sup> und 3-Amino-2.3-didesoxy-D-ribose<sup>27)</sup> bekannt geworden. Im Zusammenhang mit der Anwendung der Dialdehyd-Nitromethan-Cyclisierung<sup>28)</sup> auf „Nucleosid-dialdehyde“, die zur Synthese von 3-Amino-hexosyl-Nucleosiden mit Uracil<sup>29,30)</sup>, Adenin<sup>31)</sup>, Hypoxanthin<sup>30)</sup> und Theophyllin<sup>1)</sup> als Nucleobase führte, ergab sich die Möglichkeit, ausgehend von 1-Ribosyl- bzw. 1-Glucosyl-thymin, in die Reihe der [3-Amino-hexosyl]-thymine zu gelangen. Vorliegende Mitteilung berichtet über die mit diesem Ziel angestellten Untersuchungen<sup>32)</sup>.

Als Ausgangsprodukt diente das aus Acetobromglucose und Thymin nach der Quecksilbermethode gut zugängliche<sup>6)</sup> 1-[β-D-Glucopyranosyl]-thymin (1). Peroxydation lieferte den entsprechenden „Nucleosid-dialdehyd“, 2-O-[(R)-(Thyminyloxy)-(3)-formyl-methyl]-glyceraldehyd (2)<sup>33)</sup>. Cyclisierung von 2 mit Nitromethan/Natriummethylat in Methanol und anschließendes Ansäuern führte zu einem 3-[3-Nitro-hexosyl]-thymin-Gemisch, aus dem sich beim Behandeln mit Wasser ein kristallines Produkt abschied, das neben 3-[3-Nitro-3-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-thymin (3) noch geringe Mengen eines anderen Isomeren enthält. Reines 3 ließ sich durch Schichtchromatographie und anschließende Kristallisation aus Wasser in Nadeln vom Schmp. 170–175° und  $[\alpha]_D^{20}$ : +17° gewinnen (bezogen auf 1 24% Ausb.).

15) J. Smejkal und F. Šorm, Collect. czechoslov. chem. Commun. **29**, 2809 (1964).

16) J. J. Fox und J. Goodman, J. Amer. chem. Soc. **73**, 3256 (1951).

17) D. V. Visser, J. Goodman und K. Dittmer, J. Amer. chem. Soc. **70**, 1926 (1948).

18) T. Naito und T. Kawakami, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **10**, 627 (1962), C. A. **58**, 6916 (1963).

19) T. Naito, T. Kawakami, M. Sano und M. Hirate, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **9**, 249, 703 (1961), C. A. **58**, 1523 (1963).

20) G. Etzold und P. Langen, Naturwissenschaften **53**, 178 (1966).

21) T. Nishimura und I. Iwai, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **12**, 357 (1964), C. A. **60**, 15968 (1964).

22) W. W. Zorbach und G. J. Durr, J. org. Chemistry **27**, 1474 (1962); J. J. Novák und F. Šorm, Experientia [Basel] **18**, 213 (1962).

23) A. F. Cook und W. G. Overend, J. chem. Soc. [London] **1966**, 1549.

24) W. W. Zorbach und S. Saeki, J. org. Chemistry **29**, 2018 (1964).

25) B. R. Baker und K. Hewson, J. org. Chemistry **22**, 959 (1957).

26) H. M. Kissman und M. J. Weiss, J. Amer. chem. Soc. **80**, 2575 (1958).

27) N. Miller und J. J. Fox, J. org. Chemistry **29**, 1772 (1964).

28) F. W. Lichtenthaler, Angew. Chem. **75**, 84 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. **3**, 211 (1964).

29) K. A. Watanabe, J. Beránek, H. A. Friedman und J. J. Fox, J. org. Chemistry **30**, 2735 (1965).

30) F. W. Lichtenthaler und H. P. Albrecht, Chem. Ber. **99**, 575 (1966).

31) J. Beránek, H. A. Friedman, K. A. Watanabe und J. J. Fox, J. heterocyclic. Chem. **2**, 188 (1965).

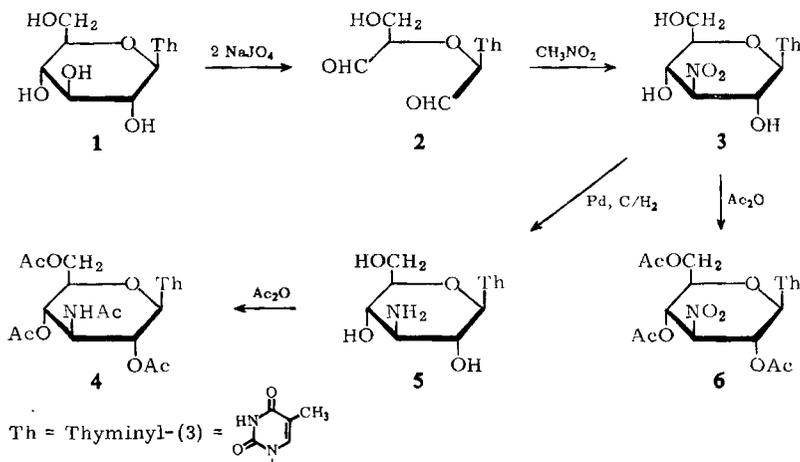
32) Vorläufige Mitteil.: F. W. Lichtenthaler, H. P. Albrecht, G. Olfermann und J. Yoshimura, Angew. Chem. **76**, 731 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. **4**, 706 (1965).

33) Zur Nomenklatur vgl. Fußnote <sup>32)</sup> in l. c. 1).

Durch saure Acetylierung wurde **3** in das Tri-*O*-acetat **6** übergeführt, während Hydrierung über Palladium/Tierkohle in absolutem Methanol 3-[3-Amino-3-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-thymine (**5**) lieferte, das als Tetraacetat **4** charakterisiert wurde.

Die *gluco*-Konfiguration wurde auf Grund NMR-spektroskopischer Daten sowie durch Identifizierung des bei Reduktion und saurer Hydrolyse gebildeten Aminozuckers gesichert.

NMR-spektroskopisch<sup>34)</sup> ergab sich für das anomere Proton H-1' der Verbindungen **3**, **5** und **4** jeweils ein Dublett mit einer Kopplungskonstanten von 9.0–9.5 Hz



(vgl. Tab.), deren Größe<sup>35,36)</sup> eine diaxiale Anordnung der Protonen an C-1' und C-2' und somit das Vorliegen einer äquatorialen Hydroxyl- bzw. Acetoxygruppe an C-2' beweist. Hierdurch lassen sich von den vier bei Nitromethan-Cyclisierung von **2** zu

NMR-Daten der Verbindungen **3**–**6**<sup>34)</sup>

Verb.	Lösungsmittel	H-1'-Dublett *)	äquat. + C-6'-OAc **)	äquat. NHAc	C-5-CH <sub>3</sub>
<b>3</b>	DMSO-d <sub>6</sub>	4.55 (9.0)	—	—	8.21
<b>6</b>	CDCl <sub>3</sub>	?	7.91 (6), 8.02 (3)	—	8.02
	DMSO-d <sub>6</sub>	?	7.96 (3), 8.00 (3) 8.08 (3)	—	8.21
<b>5</b>	D <sub>2</sub> O	4.50 (9.0)	—	—	8.12
<b>4</b>	CDCl <sub>3</sub>	4.17 (9.5)	7.94 (6), 8.03 (3)	8.10	8.10

\*) Die Größe der Kopplungskonstante  $J_{1,2'}$  in Klammern.

\*\*) In Klammern jeweils die Anzahl der Protonen des Signals.

<sup>34)</sup> Alle Protonenresonanzspektren wurden mit einem Varian-A-60-Spektrometer aufgenommen. Für die Spektren in CDCl<sub>3</sub> und DMSO-d<sub>6</sub> diente Tetramethylsilan, in D<sub>2</sub>O Natrium-3-trimethylsilyl-propansulfonat als innerer Standard. Angaben jeweils in  $\tau$ -Einheiten.

<sup>35)</sup> R. U. Lemieux, R. K. Kullnig, H. J. Bernstein und W. G. Schneider, J. Amer. chem. Soc. **80**, 6098 (1958); J. A. Pople, W. G. Schneider und H. J. Bernstein, High Resolution Nuclear Magnetic Resonance, S. 395, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, N. Y., 1959.

<sup>36)</sup> L. D. Hall, Advances Carbohydrate Chem. **19**, 65 (1964).

erwartenden Isomeren<sup>37)</sup> bereits die *D-manno*- und die *D-talo*-Konfigurationen für 3–6 ausschließen. Auf Grund der Signallagen der Acetyl-Resonanzen von 4 und 6 kann man von den beiden bleibenden Möglichkeiten die *D-galacto*-Konfiguration ausschließen, da keine axiale Acetoxygruppe<sup>38)</sup> vorliegt.

Ein chemischer Nachweis der *D-gluco*-Konfiguration ergab sich aus der eindeutigen papierchromatographischen Identifizierung von 3-Amino-3-desoxy-glucose ( $R_{Gm}$  1.07<sup>39)</sup>) nach Reduktion von 5 mit Natrium/Äthanol in flüssigem Ammoniak<sup>41)</sup> und anschließender Hydrolyse.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für großzügige finanzielle Unterstützung, der *Volkswagenwerk-Stiftung* für die Gewährung eines Stipendiums (an H. P. A.).

### Beschreibung der Versuche<sup>42)</sup>

*2-O-[(R)-(ThyminyI-(3))-formyl-methyl]-(R)-glyceraldehyd (2)*: Zu einer Lösung von 9.0 g *Natriummetaperjodat* (42 mMol) in 200 ccm Wasser wurden unter magnetischem Rühren im Verlauf von 15 Min. 6.0 g (21 mMol) *3-[\beta-D-Glucopyranosyl]-thymin (1)*<sup>6)</sup> gegeben. Man ließ die Lösung 15 Stdn. bei Raumtemp. stehen und dampfte, nach vorsichtiger Neutralisation der entstandenen Ameisensäure mit  $\text{NaHCO}_3$ , i. Vak. (30° Badtemp.) zur Hälfte ein. Nach Zusatz von 200 ccm Methanol wurde vom ausgefallenen Natriumjodat und Natriumformiat abfiltriert, das Filtrat auf 50 ccm eingeeengt, wieder mit 200 ccm Methanol versetzt und filtriert. Der methanollösliche *Dialdehyd* ließ sich so von den Na-Salzen abtrennen und blieb nach Abziehen des Lösungsmittels als farblose, nichtkristalline Masse zurück: 6.3 g (methanolhaltig);  $[\alpha]_D^{20}$ : +17° ( $c = 2$ , in Wasser)<sup>43)</sup> (Lit.<sup>6)</sup>:  $[\alpha]_D^{20}$ : +16°).

*3-[3-Nitro-3-desoxy-\beta-D-glucopyranosyl]-thymin (3)*: 6.3 g 2 wurden unter Eiskühlung und magnetischem Rühren mit 1.1 ccm (20 mMol) *Nitromethan* versetzt und 20 ccm einer *n*  $\text{NaOCH}_3$ -Lösung langsam zugegetropft. Die Lösung wurde bei Raumtemp. 2 Stdn. stehen gelassen, mit 3*n* methanol. HCl neutralisiert, filtriert und i. Vak. (40° Badtemp.) eingedampft. Der zurückbleibende gelbe Sirup wurde in 30 ccm Wasser aufgenommen. Im Kühlschrank schieden sich farblose Nadeln aus, die aus Wasser umkristallisiert wurden: 2.9 g (43 %, bez. auf 1). Das Produkt war noch mit ca. 10–20% eines langsamer wandernden Isomeren<sup>44)</sup> verunreinigt. 2 g Isomerengemisch wurden in 30 ccm Methanol auf 10 × 10 Platten (40 × 20 cm)

37) Nitromethan-Cyclisierung von 2 kann theoretisch zu acht Isomeren führen. Da jedoch nach den bisherigen Erfahrungen die Acidifizierung des primär entstehenden *aci*-Nitrosalzes stereospezifisch unter Bildung einer äquatorialen 3'-Nitro-Gruppe verläuft, sind praktisch nur die Isomeren mit *gluco*-, *galacto*-, *manno*- und *talo*-Konfiguration zu erwarten.

38) Signalebereich in  $\text{CDCl}_3$ : 7.75–7.89  $\tau$ , in  $\text{DMSO}-d_6$ : 7.82–7.91  $\tau$ .

39) Chromatographie absteigend auf Papier Schleicher & Schüll 2043 b; Laufmittel: Pyridin/Essigester/Eisessig/Wasser (5:5:1:3) mit Pyridin/Essigester/Wasser (11:40:6) als Bodenflüssigkeit<sup>40)</sup>; Laufzeit 20 Stdn., Wanderungsgeschwindigkeit  $R_{Gm}$  bezogen auf Glucosamin-hydrochlorid ( $R_{Gm} = 1$ ); Entwicklung mit Ninhydrin.

40) F. G. Fischer und H. Dörfel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 224 (1955).

41) D. C. Burke, J. org. Chemistry **20**, 643 (1955).

42) Alle Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroblock bestimmt und sind nicht korrigiert.

43) Die spezif. Drehung wurde in einem gesonderten Ansatz bestimmt, ohne vorherige Neutralisation der Ameisensäure und unter der Annahme, daß die Reaktion quantitativ verläuft.

44) Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel  $\text{HF}_{254+366}$  (E. Merck AG, Darmstadt), Schichtdicke 0.2 mm, mit *n*-Butylacetat/Eisessig/Wasser (110:32:10) als Laufmittel (Dreifachentwicklung), Sichtbarmachung durch UV.

aufgetragen. Als Sorptionsmittel diente Kieselgel HF<sub>254+366</sub> in einer Schichtdicke von 0,4 mm, als Laufmittel *n*-Butylacetat/Eisessig/Wasser (110:32:10). Nach dreimaligem Entwickeln waren die beiden Zonen genügend getrennt. Die vordere Zone wurde ausgekratzt, mit Methanol erschöpfend eluiert und die methanolische Lösung i. Vak. (40° Badtemp.) eingedampft<sup>45</sup>. Umkristallisation des Rückstandes aus Wasser ergab 1,15 g (24,5%, bez. auf **1**) an dünn-schichtchromatographisch<sup>44</sup>) einheitlichem Produkt. Schmp. 170–175°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +17° (*c* = 1,1, in Methanol). UV (Wasser):  $\lambda_{\max}$  264 m $\mu$ . Zur Analyse wurde bei 100° i. Hochvak. getrocknet. C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> · 1/2 H<sub>2</sub>O (326,3) Ber. C 40,50 H 4,90 N 12,85 Gef. C 40,64 H 4,76 N 13,19

3-[3-Nitro-3-desoxy-2,4,6-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-thymine (**6**): 300 mg **3** wurden mit 0,8 ccm Acetanhydrid, das eine Spur H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthielt, versetzt, wobei innerhalb weniger Min. vollständige Lösung eintrat. Nach 4 Stdn. bei Raumtemp. wurde unter Rühren auf Eis gegossen. Es bildete sich ein farbloser, kristalliner Niederschlag, der abfiltriert und mehrmals mit wenig eiskaltem Wasser gewaschen wurde: 280 mg (68%), Schmp. 116–118°;  $[\alpha]_D^{20}$ : –13° (*c* = 0,6, in CHCl<sub>3</sub>). Zur Analyse wurde bei 60° i. Hochvak. getrocknet. UV (Wasser):  $\lambda_{\max}$  263 m $\mu$ .

C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub> (443,4) Ber. C 46,05 H 4,77 N 9,48 Gef. C 46,17 H 4,64 N 9,17

1-[3-Amino-3-desoxy- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-thymine (**5**): 500 mg **3** (1,5 mMol) wurden in 150 ccm absol. Methanol über 500 mg 10-proz. Palladium/Tierkohle bis zur Aufnahme der berechneten Menge H<sub>2</sub> (ca. 115 ccm) hydriert. Vom Katalysator wurde abfiltriert und das Filtrat i. Vak. (40° Badtemp.) eingedampft. Der zurückbleibende Sirup wurde beim Nachdampfen mit absol. Äthanol fest. Nach Umkristallisation aus wenig absol. Äthanol: 340 mg (78%). **5** ist papierchromatographisch<sup>39</sup>) einheitlich (*R*<sub>Gm</sub> 1,30);  $[\alpha]_D^{20}$ : +27° (*c* = 0,8, in Methanol); Schmp. ab 155°. UV (Wasser):  $\lambda_{\max}$  264 m $\mu$ . Zur Analyse wurde bei 100° i. Hochvak. über KOH getrocknet.

C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (287,3) Ber. C 45,99 H 5,97 N 14,63 Gef. C 45,76 H 6,05 N 14,00

3-[3-Acetamino-3-desoxy-2,4,6-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-thymine (**4**): 100 mg **5** wurden mit 5 ccm Pyridin/Acetanhydrid (5:1) versetzt, über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen und nach Zusatz von 5 ccm absol. Äthanol i. Vak. (50° Badtemp.) zur Trockne eingedampft. Der sirupöse Rückstand wurde in Äthanol aufgenommen, mit Aktivkohle behandelt und zur Trockne eingedampft, wonach ein Rückstand blieb, der mit Äthanol/Essigester fest wurde, aber nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte: 150 mg (94%); dünn-schichtchromatographisch<sup>44</sup>) einheitlich;  $[\alpha]_D^{20}$ : –17° (*c* = 0,5, in Methanol). UV (Wasser):  $\lambda_{\max}$  263 m $\mu$ ; NMR (CDCl<sub>3</sub>) vgl. Tab.

Hydrierung der C<sup>4</sup>=C<sup>5</sup>-Doppelbindung und Hydrolyse zu 3-Amino-3-desoxy-glucose: 200 mg **5** wurden in 50 ccm flüssigem NH<sub>3</sub> gelöst. Nach Zusatz von 5 ccm absol. Äthanol und 0,3 g Natrium wurde unter Kühlung mit Trockeneis/Methanol 2 Stdn. gerührt. Die Lösung wurde mit 10 ccm Wasser versetzt, langsam auf Raumtemp. gebracht und i. Vak. (Badtemp. zuerst 20°, später 60°) zur Trockne eingedampft. Der Rückstand, der keine UV-Absorption im Gebiet um 260 m $\mu$  mehr zeigte, wurde mit 10 ccm 4 *n* Salzsäure 6 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Papierchromatographisch<sup>39</sup>) ließ sich bei Entwicklung mit Ninhydrin und mit AgNO<sub>3</sub>/NaOH ein Fleck mit *R*<sub>Gm</sub> 1,07 nachweisen (identisch mit authent. 3-Amino-glucose).

<sup>45</sup>) Eine analoge Aufarbeitung der hinteren Zone ergab 0,5 g des zweiten Isomeren, das noch stark mit **3** verunreinigt war. Dieses Fließmittel ist nach *W. Fischer*, Diplomarbeit, Techn. Hochschule, Darmstadt 1967, und *K. Kauffmann*, Diplomarbeit, Techn. Hochschule, Darmstadt 1967, sehr gut zur Trennung isomerer [3-Nitro-hexosyl]-purine und -pyrimidine geeignet. [544/66]