

Eckard Wittenburg *)

Nucleoside und verwandte Verbindungen, V¹⁾

Synthese der anomeren Thymin-nucleoside der 2-Desoxy-D-ribofuranose

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Rostock

(Eingegangen am 20. November 1967)

Durch Reaktion von 2-Desoxy-D-ribofuranosylchloriden (**2** oder **3**) mit den Silyl-Derivaten **1** bzw. **9** (aus Thymin bzw. 4-O-Äthyl-thymin) entstehen die acylierten α,β -Nucleoside **6** oder **7** bzw. **10**. Durch fraktionierte Kristallisation werden das *p*-Toluat des 2'-Desoxy- α -D-ribofuranosyl-thymins (α -**6**) und die *p*-Nitro-benzoate des 4-O-Äthyl-1-[2-desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymins (α -**10**) und seines β -Anomeren β -**10** rein dargestellt. α -**10** und β -**10** werden durch Entalkylierung zu den reinen, amorphen *p*-nitro-benzoylierten Nucleosiden α -**7** und β -**7** umgewandelt. Entacylierung der anomeren Nucleosidgemische **6** oder **7** führt zu dem Anomerengemisch der pyranoiden Isomeren des Thymidins; säulenchromatographische Trennung ergibt die reinen anomeren 2'-Desoxy-ribofuranosyl-thymine α -**8** und β -**8**. Die Struktur der Nucleoside wird durch UV-, NMR- und ORD-Spektren sowie durch Perjodat-oxidation aufgeklärt. α -**8** zeigt demnach 1C-Konformation; β -**8** C1-Konformation. Die Nucleoside gehorchen nicht den Hudsonschen Isorotationsregeln. Der Halogenzucker **3**, dessen Reindarstellung verbessert wird, reagiert mit Methanol zu den entsprechenden acylierten α - und β -Methyl-2-desoxy-ribofuranosiden α -**11** und β -**11**.

Thymin-glykoside von 2-Desoxy-glykofuranosen besitzen teilweise bemerkenswerte biochemische Aktivität. So wirken 1-[2-Desoxy-D-glucopyranosyl]-thymin^{3,4)} und 1-[2-Desoxy-D-xylopyranosyl]-thymin¹⁾ gegenüber „Uridin-Desoxyuridin“-Phosphorylase aus Ascites-Tumorzellen als kompetitiver Hemmstoff^{5,6)}. Wir unternahmen daher den Versuch zur Darstellung der pyranoiden Isomeren des natürlich vorkommenden Thymidins, die 2-Desoxy-D-ribose als Zuckerbaustein besitzen. Hierüber sei nun berichtet.

In der *Purinreihe* war vor einigen Jahren 9-[2-Desoxy- β -D-ribofuranosyl]-adenin als erstes Nucleosid der 2-Desoxy-ribofuranose aus Purin-Quecksilber-Verbindungen und 2-Desoxy-ribofuranosylhalogeniden dargestellt worden⁷⁾. Zu unserer

*) Neue Anschrift: Botanisches Institut der Universität Rostock.

¹⁾ E. Wittenburg, G. Etzold und P. Langen, Chem. Ber. 101, 494 (1968), wird als IV. Mitteil.²⁾ angesehen.

²⁾ III. Mitteil.: E. Wittenburg, Chem. Ber. 101, 1095 (1968).

³⁾ W. W. Zorbach und G. J. Durr, J. org. Chemistry 27, 1474 (1962).

⁴⁾ G. Etzold und P. Langen, Chem. Ber. 98, 1988 (1965).

⁵⁾ P. Langen und G. Etzold, Biochem. Z. 339, 190 (1963).

⁶⁾ G. Etzold, B. Preußel und P. Langen, 3. Jahrestagung der Biochemischen Gesellschaft der DDR, Sept. 1966, Suhl, DDR.

⁷⁾ H. Zinner und E. Wittenburg, Chem. Ber. 95, 1866 (1962).

Überraschung ließ sich aus *Pyrimidin-Quecksilber*-Verbindungen (Dithyminyl-quecksilber, Monoquecksilberthymine) und den 2-Desoxy-ribosepyranosylhalogeniden **2** oder **3** bei analogem Arbeiten in Toluol, Xylol oder Dimethylformamid so gut wie kein acyliertes 2'-Desoxy-D-ribosepyranosyl-thymine isolieren⁸⁾, obwohl dieses Quecksilberverfahren⁹⁾ bei 2-Desoxy-ribosefuranosyl- und anderen Halogeniden erfolgreich angewendet wurde.

Über ähnliche Mißerfolge bei der Synthese von Thymine-nucleosiden nach dem Quecksilberverfahren ist schon verschiedentlich berichtet worden, so mit den Halogenzuckern von 2-Desoxy-glucopyranose³⁾, 2,6-Didesoxy-allopyranose (Digitoxose)³⁾, 3-Desoxy-ribosefuranose¹⁰⁾, L-Rhamnofuranose¹¹⁾, Fructofuranose¹²⁾ und Psicofuranose¹²⁾.

Das Scheitern dieser Versuche ist vermutlich auf die Unbeständigkeit der 2-Desoxy-ribosepyranosylchloride bei höheren Temperaturen und Spuren von Feuchtigkeit, besonders bei Gegenwart von Quecksilbersalzen¹³⁾, zurückzuführen, ferner auf die in anderen Fällen bei diesem Verfahren nachgewiesene Bildung von *O*-Glykosiden¹⁶⁾. Diese *O*-Glykoside müßten erst durch längeres Erhitzen in Gegenwart von Quecksilbersalzen zu den *N*-1-Glykosiden umgelagert werden^{9b)}, wobei das bei der Reaktion entstehende Quecksilberchlorid diese Umlagerung nur wenig katalysiert^{21,23)} und allgemein 2-Desoxy-zuckerreste wegen ihrer Zersetzlichkeit nur schlecht von *O* auf *N* übertragen werden²¹⁾ (*O*→*N*-Umglykosidierung).

Kürzlich wurde gezeigt²⁾, daß Pyrimidin-nucleoside über Silyl-pyrimidin-Derivate leicht zugänglich sind; am schonendsten war das Arbeiten in Gegenwart von Silberperchlorat oder Quecksilberverbindungen. Dabei erfolgte sowohl die Alkylierung²⁴⁾ als auch die Glykosidierung²⁾ ausschließlich am *N*-1. Diese Methoden wurden nunmehr erfolgreich zur Synthese der anomeren Thymine-2-desoxy-ribosepyranoside eingesetzt²⁵⁾. Die anomeren 2'-Desoxy-ribosepyranosyl-uracile wurden inzwischen nach dem gleichen Verfahren hergestellt²⁶⁾.

8) E. Wittenburg, unveröffentlicht.

9) Zusammenfassende Darst.: ^{9a)} J. J. Fox und I. Wempen, *Advances Carbohydrate Chem.* **14**, 328 (1959); ^{9b)} T. L. V. Ulbricht, *Angew. Chem.* **74**, 767 (1962).

10) E. Walton, F. W. Holly, G. E. Boxer und R. F. Nutt, *J. org. Chemistry* **31**, 1163 (1966).

11) B. R. Baker und K. Hewson, *J. org. Chemistry* **22**, 966 (1957).

12) M. Prystaš, J. Farkaš und F. Šorm, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* **30**, 3123 (1965).

13) Über Zersetzungsprodukte beim Arbeiten mit 2-Desoxy-ribosefuranosylchloriden vgl. l. c.^{14,15)}.

14) M. Prystaš und F. Šorm, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* **30**, 1900 (1965).

15) F. Keller, J. E. Bunker und L. H. Brown, *J. org. Chemistry* **31**, 3840 (1966).

16) M. Hoffer, *Chem. Ber.* **93**, 2777 (1960).

17) T. Ukita, H. Hayatsu und Y. Tomita, *Chem. pharmac. Bull. [Tokyo]* **11**, 1068 (1963), *C. A.* **59**, 15373 (1963).

18) T. L. V. Ulbricht, *Proc. chem. Soc. [London]* **1962**, 298.

19) G. Schmidt und J. Farkaš, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* **31**, 4442 (1966).

20) T. L. V. Ulbricht und G. T. Rogers, *J. chem. Soc. [London]* **1965**, 6125.

21) T. L. V. Ulbricht und G. T. Rogers, *J. chem. Soc. [London]* **1965**, 6130.

22) H. G. Garg und T. L. V. Ulbricht, *J. chem. Soc. [London]* **1967**, Teil C, 51.

23) G. Wagner, *Z. Chem.* **6**, 367 (1966).

24) E. Wittenburg, *Chem. Ber.* **99**, 2380 (1966); *Z. Chem.* **4**, 303 (1964).

25) G. Etzold und P. Langen, *Naturwissenschaften* **53**, 178 (1966), gelang kürzlich die Synthese der anomeren 2'-Desoxy-ribosepyranosyl-thymine nach dem Quecksilberverfahren aus Monoquecksilberthymine und Diacetyl-2-desoxy-D-ribosepyranosylchlorid in Dimethylformamid; die *N*-Glykoside entstehen dabei vermutlich direkt ohne vorherige *O*→*N*-Umlagerung^{9b)}.

26) E. Wittenburg, *Chem. Ber.* **101**, (1968), im Druck.

Die Synthesen der für diese Reaktionen benötigten Halogenzucker der 2-Desoxy-ribofuranosen wurden verbessert. Di-*O-p*-toluoyl-2-desoxy-ribofuranosylchlorid (**2**) konnte durch Verwendung von Benzol einfacher als bisher²⁷⁾ von der bei seiner Darstellung gebildeten *p*-Toluoylsäure abgetrennt werden. Bis-*O*-[*p*-nitro-benzoyl]-2-desoxy-ribofuranosylchlorid (**3**) war nur als nicht analysenreines Produkt beschrieben worden²⁷⁾. Es wurde nunmehr aus Tris-[*p*-nitro-benzoyl]-2-desoxy-ribofuranose²⁸⁾ kristallisiert und rein erhalten. Die hohe negative Drehung spricht für das Vorliegen des β -Anomeren. Diese Annahme steht auch im Einklang mit den von Haynes und Newth²⁹⁾ für die Acetohalogenzucker formulierten Regeln, wonach die Form bevorzugt ist, die das Halogen am C-1 *trans*-ständig zur Acetoxygruppe am C-3 trägt.

Für die Nucleosidsynthese kann aber ohne weiteres das amorphe Rohprodukt von **3** eingesetzt werden, denn dieses ergab mit Methanol in 93proz. Ausbeute das *p*-Nitrobenzoat des α,β -Methyl-2-desoxy-ribofuranosids (**11**), das durch fraktionierte Kristallisation in die reinen Anomeren Glykoside α -**11** und β -**11** getrennt wurde. Die Zuordnung der Glykoside zur α - bzw. β -Reihe ergab sich durch Vergleich mit dem aus α -Methyl-2-desoxy-ribofuranosid dargestellten α -**11** (s. Versuchsteil) und auf Grund der spezifischen Drehung.

Bis-trimethylsilyl-thymin²⁴⁾ (**1**) ergab in exothermer Reaktion mit dem Halogenzucker **2** bei Raumtemperatur in Gegenwart von Silberperchlorat **4**, aus dem beim Aufarbeiten direkt das acylierte α,β -Nucleosid **6** entstand. Durch fraktionierte Kristallisation wurde daraus der größte Teil des entstandenen α -**6** abgetrennt. 1-[Di-*p*-toluoyl-2-desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymin (α -**6**) ergab nach Entacylierung direkt reines 2'-Desoxy- α -D-ribofuranosyl-thymin (α -**8**). Die Mutterlauge von α -**6** wurde nach Entacylierung säulenchromatographisch zu weiterem α -**8** und 2'-Desoxy- β -D-ribofuranosyl-thymin (β -**8**) getrennt. Insgesamt wurden auf diese Weise 53% α -**8** (bezogen auf Thymin) und 14% β -**8** erhalten.

Analog wurde **1** mit dem Halogenzucker **3** in Gegenwart von Quecksilber(II)-bromid und Quecksilber(II)-oxid über das nicht isolierte blockierte Nucleosid **5** zu dem acylierten α,β -Nucleosid **7** umgesetzt. Dieses konnte weder durch fraktionierte Fällung noch säulenchromatographisch in die beiden reinen Anomeren getrennt werden. Daher wurde ohne weitere Reinigung zum freien α,β -Nucleosid **8** entacyliert und säulenchromatographisch getrennt. Nach Umkristallisation wurden 23% (bezogen auf Thymin) 2'-Desoxy- α -D-ribofuranosyl-thymin (α -**8**) und 6% 2'-Desoxy- β -D-ribofuranosyl-thymin (β -**8**) isoliert. Das α/β -Verhältnis beträgt demnach bei unseren Synthesen ca. 3,8 : 1.

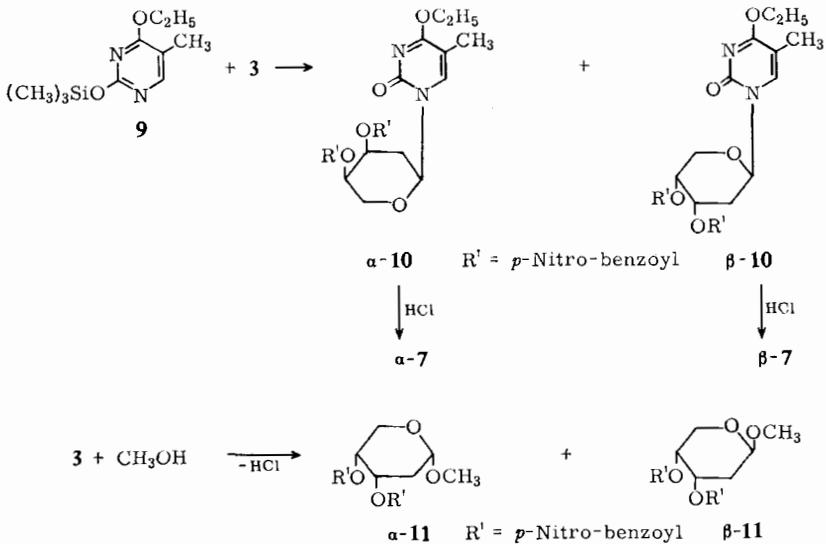
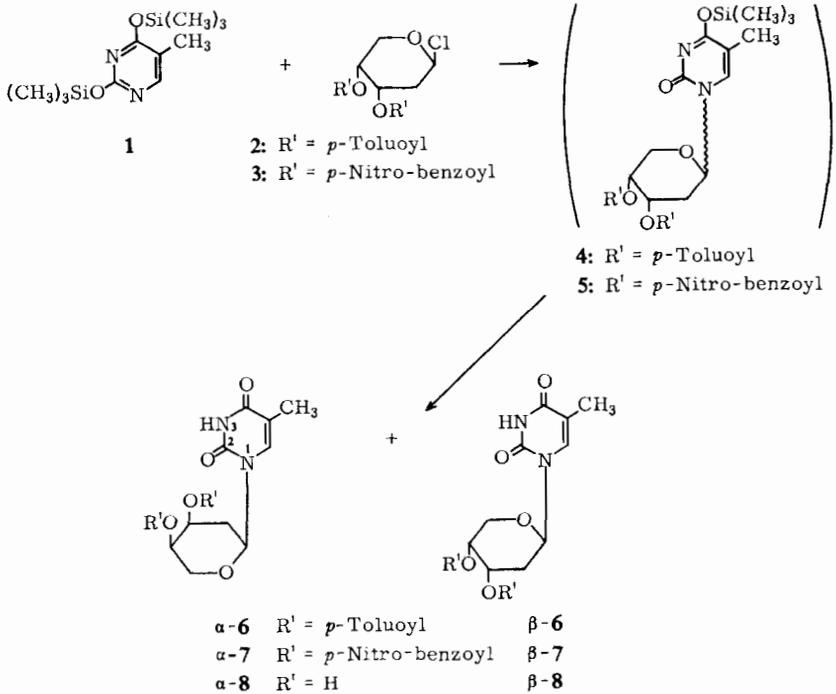
Etzold und Langen²⁵⁾ isolierten nach dem Pyrimidin-Quecksilber-Verfahren $\alpha : \beta = 1 : 1$. Neben den beiden Nucleosiden α -**8** und β -**8** trat bei dieser Synthese aber noch zusätzlich in beträchtlicher Menge ein Gemisch nucleosidähnlicher Stoffe auf³⁰⁾; ähnliches wurde kürzlich bei der Synthese der 2'-Desoxy-xylofuranosyl-thymine¹⁾ festgestellt. In beiden Fällen wurde der verwendete Halogenzucker aus einem Glykal gewonnen und nicht weiter gereinigt. Bei den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Synthesen mit reinen Halogenosen traten derartige Nebenprodukte nicht auf.

27) H. Zinner und E. Wittenburg, Chem. Ber. **94**, 2072 (1961).

28) H. Zinner, H. Nimz und E. Wittenburg, Chem. Ber. **93**, 340 (1960).

29) L. J. Haynes und F. H. Newth, Advances Carbohydrate Chem. **10**, 232 (1955).

30) G. Etzold, persönl. Mitteil.

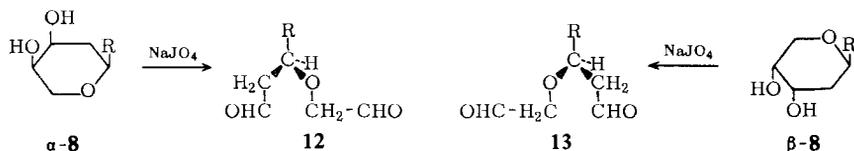


2-*O*-Trimethylsilyl-4-*O*-äthyl-thymin²⁴⁾ (**9**) reagierte mit **3** in Gegenwart von Silberperchlorat analog direkt zum acylierten 4-*O*-Äthyl-1-[2-desoxy- α,β -ribopyranosyl]-thymin **10**, das durch fraktionierte Kristallisation in die Anomeren **α-10** und **β-10**

getrennt wurde. Durch Entalkylierung mit Chlorwasserstoff in Chloroform entstanden daraus die acylierten Thymin-glykoside α -7 bzw. β -7. Durch Entacylierung und nachfolgende Entalkylierung wurden aus α -10 bzw. β -10 die zuvor beschriebenen freien Thymin-Glykoside α -8 bzw. β -8 erhalten.

Strukturaufklärung

Die dargestellten Verbindungen wurden wie die Mutterlaugen papier- und dünn-schichtchromatographisch (s. Tab. und Versuchsteil) auf Einheitlichkeit und Nebenprodukte untersucht. Die *UV-Absorptionsspektren* (Tab.) zeigen bei den Nucleosiden den für die *N*-1-glykosidische Verknüpfung typischen Verlauf^{2,31)}. *N*-3- oder *O*-Glykoside (zur Methodik vgl. l. c.²⁾) konnten nicht nachgewiesen werden. Damit muß es sich bei den unabhängig von der Methode isolierten beiden Nucleosiden um α , β -Isomere handeln. Das Auftreten dieser beiden Isomeren kommt gemäß der *Tipson-Baker-Regel*^{32,33)} wegen des Fehlens einer 2-Acyloxygruppe am C-2 des Zuckerrestes nicht unerwartet. Daß die beiden 2'-Desoxy-ribofuranosyl-thymine **8** tatsächlich Anomere sind, folgt aus der *Perjodatoxydation* (Tab.). Unter Verbrauch von 1 Mol. NaJO₄ entstanden aus den beiden Nucleosiden α -8 bzw. β -8 die spiegelbildisomeren Dialdehyde **12** bzw. **13**, die den gleichen Drehwert, jedoch mit umgekehrtem Vorzeichen, aufweisen³⁴⁾.



R = Thyminyl

Eine Zuordnung der anomeren Nucleoside α -8 und β -8 zur α - bzw. β -Reihe ist mit Hilfe der NMR-Spektroskopie und der Messung der optischen Rotationsdispersion möglich. *NMR-spektroskopisch* (Tab. und Abbild. 1) ergab sich für das anomere Proton H-1' der Verbindungen α -8 bzw. β -8 je ein doppeltes Dublett. Der Schwerpunkt dieses Signals zeigt eine Verschiebung δ_{korrr} : 5.6 bzw. 5.9 ppm (Intensität = 1). In beiden Fällen zeigt das Signal gleiche Intensitätsverteilung und fast gleich große Kopplungskonstanten. Man kann daher in erster Näherung annehmen, daß die drei zur Diskussion stehenden Protonen an C-1' und C-2' (H-1', H-2', H-2'') in α -8 dieselben Diederwinkel zueinander haben wie bei β -8. Aus der Reihe der normalen Ribopyranosylthymine ist bekannt, daß das Signal des anomeren Protons der β -Verbindung bei tieferem Feld liegt als das entsprechende α -Signal ($\delta_\beta - \delta_\alpha = 0.28$ ppm)³⁵⁾. Wir finden in unserem Falle nahezu die gleiche Differenz.

³¹⁾ E. Wittenburg, Chem. Ber. **99**, 2391 (1966).

³²⁾ R. S. Tipson, J. biol. Chemistry **130**, 55 (1939).

^{33a)} B. R. Baker, J. P. Joseph, R. E. Schaub und J. H. Williams, J. org. Chemistry **19**, 1786 (1954); ^{33b)} B. R. Baker, in E. W. Westenhalm und C. M. O'Connor, Ciba Foundation Symposium on the Chemistry and Biology of the Purines, Verlag Churchill, London 1957, S. 120.

³⁴⁾ Die gleichen Dialdehyde entstehen bei der Oxydation der anomeren 2'-Desoxy-xylopyranosyl-thymine¹⁾.

³⁵⁾ Z. Samek und J. Farkaš, Collect. czechoslov. chem. Commun. **30**, 2149 (1965).

Physikalische Konstanten von 2'-Desoxy-D-ribosepyranosyl-thyminen

	UV-Absorptionsspektren				Papierchromatographie			Perjodatoxydation	
	in Wasser λ_{\max} (nm)	λ_{\min} (nm)	in 0.1 n NaOH λ_{\max} (nm)	λ_{\min} (nm)	$R_F(A)^{a)}$	$R_F(B)$	$R_F(C)$	Verbrauch (Mol NaJO ₄)	$[\alpha]_D^{20b)}$
α -8	212; 265	233	221; 265	245	0.43	0.19	0.42	1.05	12 : -70°
β -8	212; 265	233	221; 265	245	0.47	0.28	0.56	1.14	13 : $+74^\circ$
Zum Vergleich: Thymin					0.52	0.42			

	Protonenresonanzspektren ^{c)}		Anomeres Proton		optische Rotationsdispersion					
	Standard ^{d)}	Thyminrest C-6 C-5-CH ₃	δ (ppm)	M ^{e)}	$J_{1',2'}^{f)}$ (Hz)	$\lambda_1^{h)}$ (nm)	$[\Phi]_1^{h)}$	λ_2 (nm)	$[\Phi]_2$	$a^{i)}$
α -6	A	7-8 ^{g)}	1.92	5.91	T	7	--	--		
α -8	B	7.7	1.89	5.61	Q	8 u. 4	289	- 1080	263	+2060
β -8	B	7.6	1.89	5.91	Q	9 u. 4	287	+ 660	258	-2015

a) () Laufmittel s. Versuchsteil.

b) $[\alpha]_D^{20}$ = spezif. Drehung des durch Oxydation entstandenen Dialdehyds **12** bzw. **13** in ~ 0.25 n NaJO₄.

c) Angaben in δ -Einheiten (ppm) relativ zu Tetramethylsilan (TMS) = 0 als internem Standard.

d) Standard: A = Messung in CDCl₃ mit TMS als internem Standard.

B = Messung in D₂O mit TMS als äußerem Standard;

$\delta_{\text{kor.}}$ = $\delta_{\text{gef.}}$ + 0.34; l. c.³⁶⁾, S. 25.

e) M = Multiplizität: T = Multiplett mit 3 Hauptbanden; Q = Multiplett mit 4 Hauptbanden.

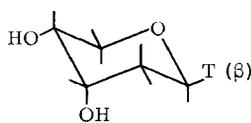
f) $J_{1',2'}$ = Kopplungskonstante.

g) Überlagert durch Protonen des Toluylrestes.

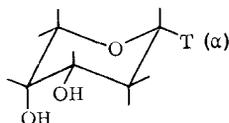
h) $[\Phi]_1$ = Molekularrotation beim ersten Extremwert (λ_1); Index 2 gilt entsprechend für den 2. Extremwert.

i) a = Molekularamplitude = $\frac{[\Phi]_1 - [\Phi]_2}{100}$.

Betrachtet man die bei den 2'-Desoxy-D-ribosepyranosyl-thyminen möglichen Sesselformen, so sieht man, daß für das β -Anomere die Sesselform C1, (**14**), für das α -Anomere aber die 1C-Konformation (**15**) die günstigste Anordnung darstellt, in der jeweils zwei der drei Substituenten äquatorial stehen.

**14**

C 1-Form

**15**

1 C-Form

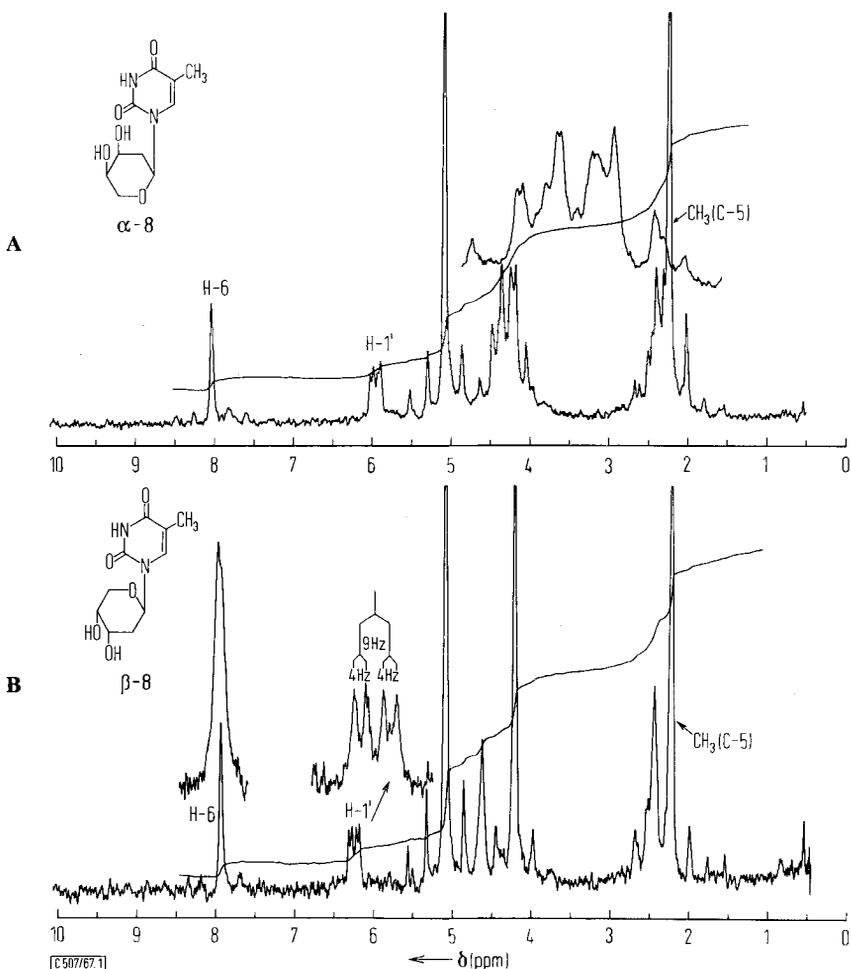
T = 1-Thyminyl

Wie aus den Formeln **14** (β -Derivat) und **15** (α -Derivat) entnommen werden kann, ist in beiden Fällen das anomere Proton axial gebunden, so daß mit den Protonen an C-2' in beiden Fällen eine a_{1a_2} - und a_{1e_2} -Konformation vorliegt. Diese Deutung ist in Übereinstimmung mit den Meßergebnissen. Die in beiden Fällen gefundenen Kopplungskonstanten von 8-9 und 4 Hz sind charakteristisch für eine *trans*-diaxiale bzw. *cis*-axial/äquatoriale Anordnung der H-Atome an C-1' und C-2'³⁶⁻³⁸⁾.

³⁶⁾ H. Suhr, Anwendung der kernmagnetischen Resonanz in der organischen Chemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965, S. 52 ff.

³⁷⁾ R. U. Lemieux, R. K. Kullig, H. J. Bernstein und W. G. Schneider, J. Amer. chem. Soc. **79**, 1005 (1957); **80**, 6098 (1958).

³⁸⁾ R. U. Lemieux und D. R. Lineback, Annu. Rev. Biochem. **32**, 155 (1963).



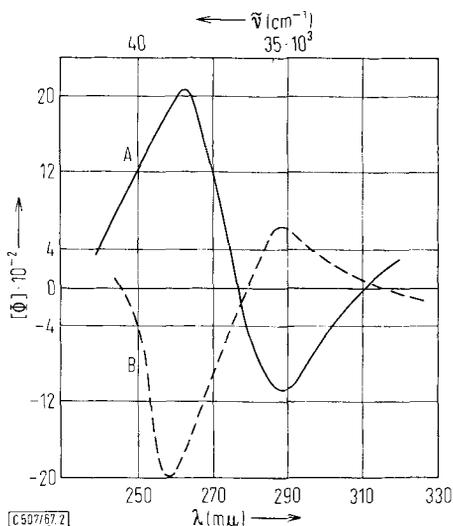
Abbild. 1. NMR-Spektren der anomeren 1-[2-Desoxy-D-ribofuranosyl]-thymine in D_2O (100 MHz; TMS als äußerer Standard). A: α -Anomeres α -8 B: β -Anomeres β -8

Aus NMR-Untersuchungen bei substituierten Cyclohexan-Derivaten ist bekannt³⁹⁾, daß ein axialer Substituent am C-3 die Abschirmung des axialen Protons am C-1 stärker verringert (größerer δ -Wert) als ein äquatorialer Substituent am C-3. Je nach Art des Substituenten beträgt der Unterschied in der Verschiebung 0.2–0.4 ppm. In der von uns angenommenen C1-Konformation (14) für β -8 ist der Substituent am C-3 axial gebunden, bei α -8 (1C-Konformation 15) dagegen äquatorial. Die gefundene chemische Verschiebung des Signals des anomeren Protons der β -Verbindung gegenüber dem der α -Verbindung um ca. 0.3 ppm nach niedrigerem Feld bestätigt somit die angenommene Zuordnung.

Die beiden anomeren 2'-Desoxy-ribofuranosyl-thymine besitzen demnach unterschiedliche Konformation.

³⁹⁾ H. Booth, Tetrahedron [London] **22**, 615 (1966).

Emerson und Ulbricht⁴⁰⁾ sowie auch andere Autoren⁴¹⁻⁴⁴⁾ wiesen darauf hin, daß α -Pyrimidin-nucleoside in der Regel bei der optischen Rotationsdispersion einen negativen, β -Pyrimidin-nucleoside einen positiven Cotton-Effekt aufweisen. Auch die hier beschriebenen 2'-Desoxy-D-ribopyranosyl-thymine folgen dieser Regel (vgl. Tab. 1 und Abbild. 2).



Abbild. 2. Optische Rotationsdispersion (in Wasser)
 A: 1-[2-Desoxy- α -D-ribopyranosyl]-thymine (α -8, ———)
 B: 1-[2-Desoxy- β -D-ribopyranosyl]-thymine (β -8, - - -)

Damit ist die Struktur der anomeren 2'-Desoxy-ribopyranosyl-thymine (8) eindeutig gesichert. Die übrigen Verbindungen (6, 7 und 10) sind durch die Überführung in 8 ebenfalls sterisch zugeordnet. Es zeigt sich, daß nicht nur die freien 2'-Desoxy-D-ribopyranosyl-thymine (α -8, β -8), sondern auch deren *p*-Toluate (α -6, β -6) und *p*-Nitro-benzoate (α -7, β -7) sowie die acylierten 4-*O*-Äthyl-thymine-glykoside (α -10, β -10) Ausnahmen der Hudsonschen Isorotationsregel darstellen. Lemieux und Hoffer⁴⁵⁾ hatten angenommen, daß allgemein die Derivate der 2-Desoxy-D-ribopyranose anders als die 2-Desoxy-D-ribofuranoside den Hudsonschen Isorotationsregeln entsprechen. Dies gilt jedoch — wie unsere Versuche zeigen — nicht für die Thymine-Derivate.

In allen in dieser Arbeit untersuchten Fällen drehen die β -Thymine-nucleoside rechts, die α -Verbindungen links.

40) T. R. Emerson und T. L. V. Ulbricht, Chem. and Ind. **1964**, 2129.

41) T. L. V. Ulbricht, J. P. Jennings, P. M. Scopes und W. Klyne, Tetrahedron Letters [London] **1964**, 1956.

42) T. L. V. Ulbricht, T. R. Emerson und R. J. Swan, Biochem. Biophys. Research Commun. **19**, 643 (1965).

43) T. L. V. Ulbricht, T. R. Emerson und R. J. Swan, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 1561.

44) L. Frič, J. Šmejkal und J. Farkaš, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 75.

45) R. U. Lemieux und M. Hoffer, Canad. J. Chem. **39**, 110 (1961).

Den Herren Priv.-Doz. Dr. H. Paulsen und Dr. W.-P. Trautwein, Hamburg, danke ich sehr herzlich für die Aufnahme der NMR- und ORD-Spektren sowie für wertvolle Diskussionen. Mein Dank gilt ferner Frau E. Fox für technische Mitarbeit. Herrn Prof. Dr. H. Zinner sei für das der Arbeit entgegengebrachte Wohlwollen und Interesse herzlich gedankt.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Mikroheiztisch (Boetius) bestimmt und sind korrigiert. Die *Papierchromatographie* wurde aufsteigend mit Keilstreifen aus Schleicher & Schüll-Papier 2043 b vorgenommen. Laufmittel: A: Butanol/Wasser (86 : 14), B: Essigester, gesätt. mit 3proz. Essigsäure; C: Essigester/Isopropylalkohol/Wasser (4 : 1 : 2, obere Phase); Laufzeit 12–16 Stdn. *Dünnschichtchromatographie* freier Nucleoside auf Cellulosepulver MN 300 (Macherey, Nagel & Co.), Schichtdicke 0.25 mm, Laufmittel C. Sichtbar gemacht wurde durch UV (Nucleoside); Prüfung auf freie Zucker mit Anilinphtalat. Acylierte Nucleoside wurden auf Aluminiumoxid D (gipshaltig, VEB Chemiewerk Greiz-Döhlau) mit Benzol/Essigester-Gemischen getrennt und durch UV sichtbar gemacht.

Die *UV-Absorptionsspektren* wurden mit dem registrierenden Spektralphotometer USP 2 (Akademiewerkstätten Berlin-Adlershof) mit 10 mm Quarzküvetten gemessen, die *NMR-Spektren* der Nucleoside mit dem hochauflösenden Kernresonanzspektrometer Varian HA 100 aufgenommen, Konzentrationen in CDCl_3 oder D_2O ca. 10%, in CDCl_3 Tetramethylsilan als interner Standard, in D_2O als externer Standard ($\delta_{\text{korrr.}} = \delta_{\text{gef.}} + 0.34$)⁴⁶⁾.

Zur Messung der *optischen Rotationsdispersion* wurde das Gerät Cary 60 eingesetzt. Konzentration der wäbr. Lösungen 0.1 mg/ccm. Temperatur ca. 20°. Die *Perjodatoxydation* wurde ausgeführt, wie früher²⁾ angegeben.

Säulenchromatographische Trennung und Reinigung freier Nucleoside: Auf eine Säule von 400 mm Durchmesser und 700 mm Länge mit 300 g Cellulosepulver (Schleicher & Schüll Nr. 123; Suspension mit der oberen Phase eines Gemisches von Essigester/Isopropylalkohol/Wasser (4 : 1 : 2)) werden 1.0 g rohes Nucleosid (gelöst in möglichst wenig Isopropylalkohol) gegeben. Man eluiert mit Essigester/Isopropylalkohol/Wasser (4 : 1 : 2, obere Phase). Die Eluate (Fraktionen zu 10 ccm) werden durch Tüpfeln auf Chromatographiepapier und Bestrahlen mit einer UV-Lampe auf Nucleosidgehalt geprüft. Die Nucleosidfraktionen werden anschließend durch Papier- und Dünnschichtchromatographie (Cellulose) auf Einheitlichkeit untersucht; einheitliche Fraktionen werden vereint und eingedampft.

1-[3,4-Di-O-p-toluoyl-2-desoxy- α -D-ribopyranosyl]-thymine (α -6): 3.89 g (10 mMol) *1-Chlor-3,4-di-O-p-toluoyl-2-desoxy- β -D-ribopyranose* (**2**) werden mit 2.70 g (10 mMol) des *Thymin-silylesters*²⁴⁾ **1** nach der früher beschriebenen Methode²⁾ mit *Silberperchlorat* zur Reaktion gebracht und aufgearbeitet. Aus dem rohen acylierten α,β -Nucleosid α -6/ β -6 wird durch Kristallisation mit Benzol/Äther (1 : 1) und Essigester/Äther/Petroläther (1 : 1 : 1) reines acyliertes α -Nucleosid α -6 gewonnen. Ausb. 1.67 g (35%), farblose Nadeln, Schmp. 225–227°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -154.0° ($c = 1.51$ in CHCl_3). NMR-Spektrum s. Tab. S. 1619.

$\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7$ (478.5) Ber. C 65.26 H 5.48 N 5.85 Gef. C 65.42 H 5.46 N 6.10

In der Mutterlauge (2.50 g) befindet sich weiteres α -6/ β -6. Da durch Kristallisation eine weitere Auftrennung in die Anomeren nicht gelingt, wird zu α -8/ β -8 entacyliert und aufgearbeitet, wie nachfolgend unter b) angegeben.

46) 1. c.36), S. 25.

1-[2-Desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymidin (α -8) und 1-[2-Desoxy- β -D-ribofuranosyl]-thymidin (β -8)

a) 478 mg (1 mMol) *1-[3.4-Di-O-p-toluoyl-2-desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymidin (α -6)* ergeben nach Entacetylierung mit *Natriummethylat*²⁾ 240 mg (100%) reines α -Nucleosid α -8 (aus absol. Äthanol und Äther).

b) 2.0 g rohes *1-[3.4-Di-O-p-toluoyl-2-desoxy- α,β -D-ribofuranosyl]-thymidin (α -6/ β -6)* (aus den Mutterlauge von α -6; s. o.) werden mit *Natriummethylat* wie allgemein üblich²⁾ zu α -8/ β -8 entacetyliert. Das Produkt (1.0 g) wird durch Säulenchromatographie an Cellulosepulver gereinigt und in die Anomeren getrennt (s. allgemeine Vorschrift). Die Fraktionen 81–100 ergeben rohes β -8, frei von Thymin und 2-Desoxy-ribose. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus absol. Äthanol erhält man 340 mg reines β -Nucleosid β -8 (14%, bez. auf 1). Aus den Fraktionen 114–120 gewinnt man nach Eindampfen i. Vak. und Umkristallisieren aus wenig absol. Äthanol 352 mg (18%) reines α -Nucleosid α -8.

c) 4.51 g (10 mMol) *1-Chlor-3.4-bis-O-[p-nitro-benzoyl]-2-desoxy- β -D-ribofuranose (3)* und 2.70 g **1**²⁴⁾ ergeben in Gegenwart von *Quecksilber(II)-oxid* und *Quecksilber(II)-bromid* nach der früher beschriebenen Methode²⁾ 4.30 g (80%) rohes *p-Nitro-benzoyl- α,β -nucleosid α -7/ β -7*. Durch Entacetylierung mit *Natriummethylat* entstehen daraus 1.36 g (56%) rohes α,β -Nucleosid α -8/ β -8. 1.0 g dieses Gemisches werden durch Säulenchromatographie an Cellulosepulver, wie oben beschrieben, gereinigt und in die Anomeren getrennt. Die Fraktionen 68–92 werden vereinigt, eingedampft und aus absol. Äthanol umkristallisiert. Man gewinnt 145 mg (6%) reines β -8. Die Fraktionen 98–160 ergeben analog 410 mg (23%) reines α -Nucleosid α -8.

1-[2-Desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymidin (α -8): Farblose, kräftige Nadeln, Schmp. 234 bis 236.5°, $[\alpha]_D^{20}$: -50.7° ($c = 2.00$ in Wasser) (Lit.²⁵⁾; Schmp. 224–226°; $[\alpha]_D^{20}$: -46.6° (Wasser). Weitere physikalische Daten s. Tab. S. 1619 sowie Abbild. 1 und 2 (ORD-Spektrum).

$C_{10}H_{14}N_2O_5$ (242.2) Ber. C 49.58 H 5.82 N 11.56 Gef. C 49.44 H 5.74 N 11.59

1-[2-Desoxy- β -D-ribofuranosyl]-thymidin (β -8): Farblose Kristalle, Schmp. 228–230°. $[\alpha]_D^{20}$: $+35.6^\circ$ ($c = 1.11$ in Wasser) (Lit.²⁵⁾; Schmp. 221.5°–223.5°, $[\alpha]_D^{20}$: $+27^\circ$ (Wasser). Weitere physikalische Daten s. Tab. S. 1619 sowie Abbild. 1 und 2.

Gef. C 49.73 H 5.67 N 11.49

4-O-Äthyl-1-[3.4-bis-O-(p-nitro-benzoyl)-2-desoxy- β -D-ribofuranosyl]-thymidin (β -10): 4.51 g (10 mMol) *1-Chlor-3.4-bis-O-[p-nitro-benzoyl]-2-desoxy-ribose (3)* werden mit 2.26 g (10 mMol) *2-O-Trimethylsilyl-4-O-äthyl-thymidin*²⁴⁾ (**9**) in Gegenwart von *Silberperchlorat* nach der früher beschriebenen Methode²⁾ umgesetzt und aufgearbeitet. Das sirupöse acylierte Rohprodukt (4.40 g, 78%) wird in 20 ccm Benzol gelöst und über Nacht bei Raumtemp. aufbewahrt. Die ausgeschiedenen Kristalle (1.37 g) werden wiederholt aus Benzol umkristallisiert. Man gewinnt 1.19 g (21%, bez. auf **3**) DC-reines β -10, Schmp. 215–218°; $[\alpha]_D^{21}$: $+29.9^\circ$ ($c = 1.01$ in $CHCl_3$), $+11.6^\circ$ ($c = 1.58$ in Pyridin). Dünnschichtchromatographie (Aluminiumoxid, Akt.-St. III): R_F -Wert in Benzol/Essigester (2 : 1) 0.49.

$C_{26}H_{24}N_4O_{11}$ (568.5) Ber. C 54.93 H 4.26 N 9.86

Gef. C 54.99 H 4.61 N 10.06

Eine kleine Probe β -10 ergab nach Entacetylierung mit *Natriummethylat* und Entalkylierung mit *Wofatit KPS* (H^{\oplus} -Form) reines β -8 (Papierchromatographie).

4-O-Äthyl-1-[3.4-bis-O-(p-nitro-benzoyl)-2-desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymidin (α -10): Nach Abtrennung von β -10 (s. o.) versetzt man die Benzollösung langsam mit wenig Äther. Die nach kurzer Zeit ausgeschiedenen Kristalle werden aus Benzol/Äther umkristallisiert. Ausb. an DC-reinem α -10: 2.15 g (38%) Nadeln, Schmp. 125–128° zu einem zähen Sirup. $[\alpha]_D^{20}$:

–150.0° ($c = 1.95$ in CHCl_3); –117.2° ($c = 2.40$ in Pyridin). Dünnschichtchromatographie (Al_2O_3 , Akt.-St. III): R_F -Wert in Benzol/Essigester (2:1) 0.15.

Gef. C 55.14 H 4.33 N 9.59

Eine kleine Probe α -10 ergab nach Entacylierung und Entalkylierung (s. o. bei β -10) reines α -8 (Papierchromatographie).

1-[3.4-Bis-O-(p-nitro-benzoyl)-2-desoxy- α -D-ribofuranosyl]-thymidin (α -7): 284 mg (0.5 mMol) α -10 werden in 30 ccm absol. Chloroform, gesättigt mit trockenem Chlorwasserstoff, 24 Stdn. bei Raumtemp. aufbewahrt, eingedampft und zweimal mit Toluol azeotrop getrocknet. Ausb. 232 mg (86%), amorphes Pulver, DC-rein, sehr schwer löslich in Benzol und Chloroform. $[\alpha]_D^{25}$: –134.8° ($c = 1.12$ in CHCl_3); –78.8° ($c = 1.29$ in Pyridin).

$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_{11}$ (540.4) Ber. C 53.33 H 3.73 N 10.37

Gef. C 52.97 H 3.95 N 9.97

Entacylierung ergab reines α -8 (Papierchromatographie).

1-[3.4-Bis-O-(p-nitro-benzoyl)-2-desoxy- β -D-ribofuranosyl]-thymidin (β -7): 142 mg (0.25 mMol) β -10 werden analog α -10 zu β -7 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausb. 121 mg (90%) farbloses Pulver, Schmp. 225–235°. $[\alpha]_D^{25}$: +10.0° ($c = 1.71$ in Pyridin).

Gef. N 10.59

Entacylierung führt zu reinem β -8 (Papierchromatographie).

1-Chlor-3.4-di-O-p-toluoyl-2-desoxy- β -D-ribofuranose (2) wird nach der früher²⁷⁾ angegebenen Vorschrift dargestellt. Zur Reinigung versetzt man zweckmäßig mit wenig absol. Benzol, filtriert von der unlöslichen *p*-Toluoylsäure ab und kristallisiert den Eindampfrückstand des Filtrates aus Äther/Pentan um. Ausb. 72%, Nadeln, Schmp. 113–115°.

1-Chlor-3.4-bis-O-[p-nitro-benzoyl]-2-desoxy- β -D-ribose (3): 5.81 g (10 mMol) *1.3.4-Tris-[p-nitro-benzoyl]-2-desoxy-D-ribofuranose*²⁸⁾ werden in 200 ccm einer bei 0° gesätt. Lösung von Chlorwasserstoff in absol. Methylenchlorid aufgeschlämmt und fest verschlossen bei 20° unter gelegentlichem Umschütteln aufbewahrt. Dabei löst sich das Ausgangsprodukt langsam auf, während *p*-Nitro-benzoesäure abgeschieden wird. Nach 2–3 Stdn. kühlt man auf –10° ab, filtriert die ausgeschiedene *p*-Nitro-benzoesäure (1.57 g, 94%) ab und dampft das klare Filtrat i. Vak. unter Feuchtigkeitsausschluß bei 30° ein. Nun nimmt man den sirupösen Rückstand in wenig absol. Benzol auf, dampft erneut i. Vak. ein und wiederholt diese Operation anschließend noch zweimal mit absol. Äther. Das dabei anfallende pulverförmige Rohprodukt wird in 20 ccm Methylenchlorid gelöst und mit dem gleichen Vol. Pentan bei 0° zur Kristallisation gebracht. Ausb. 3.69 g (82%), gelbliche unregelmäßige Prismen, Schmp. 119–121°, $[\alpha]_D^{25}$: –311.2° ($c = 1.05$ in CHCl_3).

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_9$ (450.8) Ber. C 50.62 H 3.36 Cl 7.86 N 6.21

Gef. C 50.75 H 3.55 Cl 7.95 N 6.25

α,β -Methyl-3.4-bis-O-[*p*-nitro-benzoyl]-2-desoxy-D-ribofuranosid (11): 0.451 g (1 mMol) 3 in 4 ccm absol. Essigester werden mit 40 ccm absol. Methanol versetzt und über Nacht bei 5° aufbewahrt. Der nach dem Eindampfen i. Vak. zurückbleibende Sirup wird wiederholt in wenig Benzol gelöst und erneut eingengt. Nach Verreiben mit Äther erhält man 415 mg (93%) anomeres α,β -Methyl-2.4-bis-O-[*p*-nitro-benzoyl]-2-desoxy-ribofuranosid.

β -Methyl-3.4-bis-O-[*p*-nitro-benzoyl]-2-desoxy-D-ribofuranosid (β -11): Das zuvor erhaltene Anomerengemisch der Glykoside wird aus 1 ccm Essigester und 15 ccm absol. Methanol

fraktioniert kristallisiert. Aus der ersten Fraktion erhält man nach Umkristallisieren 170 mg (38%), Prismen, Schmp. 141–143°, $[\alpha]_D^{20}$: -230.0° ($c = 1.78$ in CHCl_3).

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_{10}$ (446.4) Ber. C 53.81 H 4.07 N 6.28

Gef. C 54.21 H 4.36 N 6.33

α -Methyl-3.4-bis-O-[p-nitro-benzoyl]-2-desoxy-D-ribose (**α -11**)

a) Die nach Abtrennung des β -Glykosides anfallenden Mutterlaugen ergaben nach Zusatz von Pentan weitere Kristalle, aus denen nach Umkristallisieren aus Methanol 195 mg (44%) *α -Glykosid*, Schmp. 112–114°, erhalten werden.

b) 296 mg (2 mMol) *α -Methyl-2-desoxy-D-ribose*⁴⁷⁾ werden mit 1.30 g *p-Nitrobenzoylchlorid* in 25 ccm absol. Pyridin wie üblich²⁹⁾ umgesetzt und aufgearbeitet. Das sirupöse Rohprodukt wird mit wenig absol. Methanol kristallin. Man erhält nach zweimaliger Kristallisation mit absol. Methanol/Pentan 465 mg (52%) farblose Stäbchen, Schmp. 112 bis 114°; Misch-Schmp. mit **α -11** nach a) ohne Depression. $[\alpha]_D^{20}$: -12.8° ($c = 1.13$ in CHCl_3).

Gef. C 53.63 H 4.39 N 6.02

⁴⁷⁾ L. Vargha und J. Kuszmann, Chem. Ber. **96**, 411 (1963); den Autoren sei an dieser Stelle für die Überlassung dieser Substanz sehr herzlich gedankt.