

CHEMISCHE BERICHTE

In Fortsetzung der

BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

herausgegeben von der

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

103. Jahrg. Nr. 5

S. 1307–1654

Peter Faerber und Karl-Heinz Scheit

Die chemische Synthese von 2,4-Dithio-thymin-nucleosiden

Aus dem Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Abteilung Chemie, Göttingen

(Eingegangen am 9. Dezember 1969)

Die chemische Synthese von 2-Thio-desoxythymidin (6)*, 2,4-Dithio-5-methyl-uridin (3), und 2,4-Dithio-desoxythymidin (7) wird beschrieben. Die Massenspektren, Absorptionsspektren und pK-Werte dieser Verbindungen werden angegeben.

The Chemical Synthesis of 2,4-Dithiothymine Nucleosides

The chemical synthesis of 2-thiodesoxythymidine (6)*, 2,4-dithio-5-methyluridine (3), and 2,4-dithiodesoxythymidine (7) is reported. Mass spectra, absorption spectra, and pK-values of these compounds are given.

Enzymatisch und chemisch synthetisierte Polynucleotide mit 4-Thio-uracil- oder 4-Thio-thymin-Resten weisen interessante physikalische sowie biologische Eigenschaften auf¹⁻⁴⁾.

Die Synthese von 2,4-Dithio-pyrimidin-polynucleotiden war deshalb naheliegend und wurde mit den als Ausgangssubstanzen benötigten Nucleosiden 2,4-Dithio-5-methyl-uridin und 2,4-Dithio-desoxythymidin begonnen, über deren Darstellung wir hier berichten.

Die von Fox et al.⁵⁾ eingeführte Reaktion von Uracil- oder Thymin-nucleosiden mit P₂S₅ in Pyridin ergibt ausschließlich 4-Thio-Derivate. Bei der Reaktion von 2',3',5'-Tri-O-benzoyl-4-thio-uridin mit P₂S₅ in Tetralin unter drastischeren Bedin-

*) 2-Thio-desoxythymidin bedeutet hier 2-Thio-2'-desoxy-ribosylthymidin.

1) K. H. Scheit und E. Gaertner, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **182**, 1 (1969).

2) K. H. Scheit und E. Gaertner, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **182**, 10 (1969).

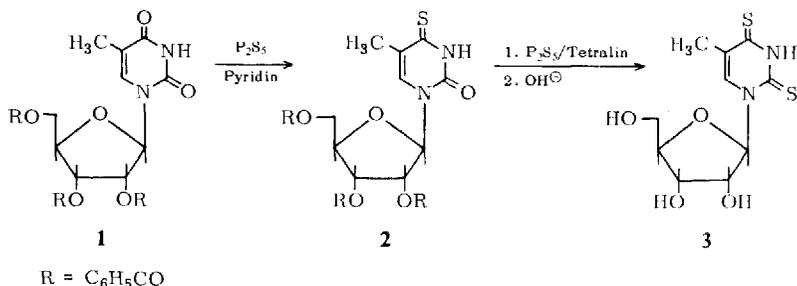
3) A. G. Lezius und K. H. Scheit, *Europ. J. Biochemistry* **3**, 85 (1969).

4) K. H. Scheit, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **166**, 285 (1968).

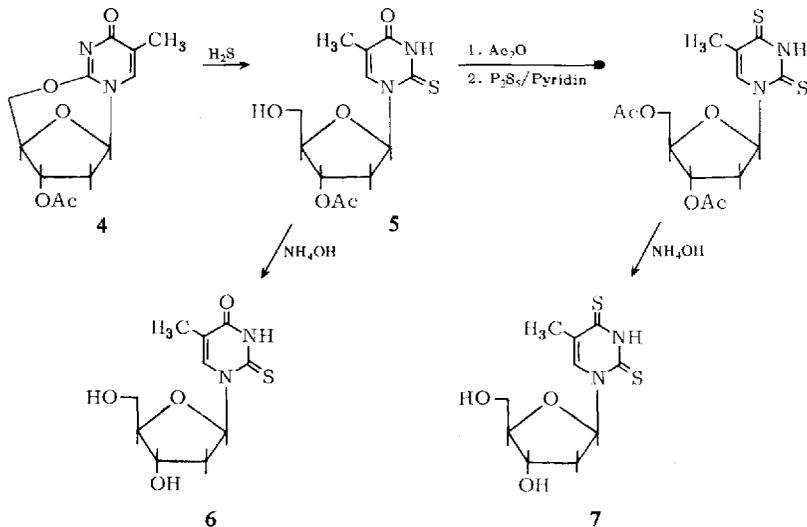
5) J. J. Fox, S. van Praag, I. L. Doerr, L. Cheong, I. E. Knoll, M. L. Eidinoff und A. Bendich, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 178 (1959).

ungen erhielten Ueda et al.⁶⁾ das entsprechende 2,4-Dithio-uridin-Derivat. Wir benutzten eine Kombination der beiden Methoden für die Darstellung von 2,4-Dithio-5-methyl-uridin (3).

Die Ausbeute an analytisch reinem 3, bezogen auf das Ausgangsmaterial 1, betrug 21%. Diese Reaktion kann jedoch nur zur Darstellung von 2,4-Dithio-*ribo*-nucleosiden benutzt werden, da Desoxynucleoside unter den Bedingungen der Reaktion mit P_2S_5 in Tetralin eine Spaltung der glykosidischen Bindung erleiden⁶⁾.



Eine Alternative zur Synthese von 2,4-Dithio-desoxythymidin würde die Umsetzung von 2-Thio-desoxythymidin⁷⁾ mit P_2S_5 in Pyridin sein. 2-Thio-uridin ist durch nucleophile Reaktion von H_2S mit $O^2,5'$ -Anhydro-uridin dargestellt worden⁸⁾ und 3'-O-Mesyl-2-thio-desoxy-thymidin war nach derselben Methode zugänglich⁹⁾. Das Formelschema gibt den von uns gewählten Syntheseweg wieder:



⁶⁾ T. Ueda, Y. Jeda, K. Ikeda und Y. Mizumo, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **16**, 1788 (1968).

⁷⁾ Die Totalsynthese von 2-Thio-desoxythymidin wurde von H. Vorbrüggen und H. Strelhke auf dem 1. Symposium über die Chemie der Nucleinsäure-Komponenten, Liblice (CSSR) 1969, berichtet.

⁸⁾ D. M. Brown, D. B. Parihar, A. R. Todd und S. Varadarajan, J. chem. Soc. [London] **1958**, 3028; R. W. Chambers und V. Kurkov, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2160 (1963).

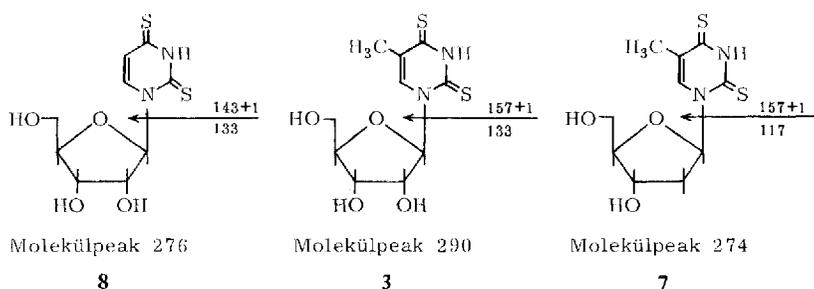
⁹⁾ I. Wempen und J. J. Fox, J. org. Chemistry **34**, 1020 (1969).

Der kritische Schritt war die Ringöffnung bei **4** durch H_2S , die mit 30% Ausbeute erfolgte. Die Struktur von **6** wurde durch Vergleich mit authentischem Material sichergestellt. Die Reaktionen von **5** nach **7** verliefen, wie erwartet, mit befriedigenden Ausbeuten.

Die Charakterisierung der synthetisierten 2,4-Dithio-thymin-nucleoside **3** und **7** erfolgte durch Massenspektrum¹⁰⁾, Absorptionsspektrum und Elementaranalyse.

Der Vollständigkeit halber wurde auch das 2,4-Dithio-uridin (**8**) in die Untersuchung der Absorptions- und Massenspektren einbezogen. Tab. 1 zeigt, daß alle 2,4-Dithio-nucleoside an der glykosidischen Bindung in Zucker- und Dithiopyrimidin-Fragment zerfallen.

Tab. 1. Einige Peaks in den Massenspektren der 2,4-Dithio-pyrimidin-nucleoside. Alle Massenzahlen in *m/e*



Die interessantesten Eigenschaften der synthetisierten Nucleoside sind deren Absorptionsspektren mit Maxima ober- und unterhalb 300 $m\mu$. Im Gegensatz zum UV-Spektrum der 4-Thio-pyrimidin-nucleoside sind die Absorptionsbanden im sichtbaren Bereich von geringerer Intensität als diejenigen bei 280 $m\mu$.

Die pK -Werte der dargestellten Verbindungen wurden aus der pH -Abhängigkeit der UV-Spektren ermittelt und sind zusammen mit spektroskopischen Daten im experimentellen Teil angegeben.

Wir danken Herrn Prof. Dr. F. Cramer für die wohlwollende Unterstützung sowie Herrn R. Rackwitz für intelligente und fleißige Mithilfe. Die *Futsche Forschungsgemeinschaft* unterstützte diese Arbeit durch eine Sachbeihilfe.

Beschreibung der Versuche

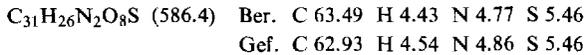
UV-Spektren wurden mit dem Gerät Cary 14 aufgenommen. Schmelzpunkte wurden mit dem Monoskop (Fa. Reichert, Österreich) bestimmt und sind nicht korrigiert. Um die pH -Abhängigkeit der UV-Spektren zu erhalten, wurde die OH^- -Ionen-Titration direkt in der Küvette ausgeführt, ohne das Volumen um mehr als 2% zu ändern.

Dünnschichtplatten mit Silicagel F₂₅₄ (E. Merck, AG) wurden für analytische, und mit Silicagel PF₂₅₄ (E. Merck AG) für präparative Zwecke benützt.

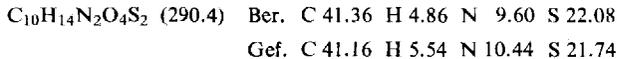
¹⁰⁾ Wir danken dem *Institut für Molekulare Biologie* in Stöckheim für die Aufnahme der Massenspektren.

5-Methyl-uridin¹¹⁾, 3'-O-Acetyl-O²,5'-anhydro-desoxythymidin (4)¹²⁾ und 2',3',5'-Tri-O-benzoyl-5-methyl-uridin (1)⁵⁾ wurden nach der Literatur bereitet. Desoxythymidin wurde von der Zellstoffabrik Waldhof (Mannheim) bezogen.

2',3',5'-Tri-O-benzoyl-4-thio-5-methyl-uridin (2): Die Darstellung erfolgte nach der Literatur⁵⁾ ausgehend von 8.0 g (13.5 mMol) 1 und 5.5 g (20 mMol) P₂S₅. Aus Äthanol Ausb. 3.1 g (38%), Schmp. 195–199°.

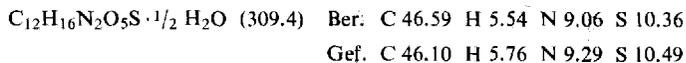


2,4-Dithio-5-methyl-uridin(3): 3.1 g (5 mMol) 2 in 100 ccm Tetralin wurden mit 2.5 g (10 mMol) P₂S₅ und 0.5 g (5 mMol) K₂S nach Ueda et al.⁶⁾ behandelt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wurde der Rückstand der Schichtchromatographie an Kieselgel mit Benzol/Äthylacetat (9 : 1, v/v) unterworfen. Zwei gelbe Zonen mit größeren R_F-Werten als das Ausgangsmaterial wurden mit Chloroform/Methanol (1 : 1, v/v) vom Kieselgel eluiert. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert, der Rückstand 3 Stdn. bei Raumtemp. mit Natriumäthylat in Äthanol behandelt, das Gemisch mit Dowex-H[®]-Ionenaustauscher neutralisiert und das Filtrat eingengt. Nach Schichtchromatographie an Kieselgel in Chloroform/Methanol (85 : 15, v/v) aus Wasser 0.80 g (55%, bez. auf 2, 21%, bez. auf 1) gelbe Nadeln, Schmp. 112°, pK 7.70.



UV (Wasser, pH 5.5): λ_{max} 340 mμ (ε 1 · 10⁴), 283 (1.88 · 10⁴).

3'-O-Acetyl-2-thio-desoxythymidin (5): Eine Lösung von 1.1 g (4.1 mMol) 3'-O-Acetyl-O²,5'-anhydro-desoxythymidin (4) und 12.5 ccm Triäthylamin in 150 ccm DMF wurde in einem Autoklaven bei –70° mit H₂S gesättigt, das Gefäß 4 Tage bei Raumtemp. gehalten, die Mischung danach eingengt und der Rückstand der präparativen Schichtchromatographie mit CCl₄/Aceton (7 : 3, v/v) unterworfen. 5 wurde aufgrund seines UV-Spektrums identifiziert und vom Kieselgel mit CHCl₃/CH₃OH (1 : 1, v/v) eluiert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels aus Wasser 370 mg (30%) farbl. Kristalle, Schmp. 140°.



UV (Wasser, pH 5.5): λ_{max} 276 mμ (ε 1.66 · 10⁴), 220 (1.5 · 10⁴), λ_{min} 244 (3.9 · 10³).

2-Thio-desoxythymidin (6): 150 mg (0.5 mMol) 5 wurden in 100 ccm halbgesättigter Methanol-NH₃-Lösung 12 Stdn. bei 0° gehalten. Danach wurde zur Trockne eingengt und der Rückstand aus Wasser kristallisiert. Ausb. 123 mg (95%), Schmp. 170° und Mischschmp. mit authentischem Material waren identisch¹³⁾. — pK 8.70.

UV (Wasser, pH 5.5): λ_{max} 276 mμ (ε 1.66 · 10⁴), 220 (1.5 · 10⁴), λ_{min} 244 (4.4 · 10³).

2,4-Dithio-desoxythymidin (7): 150 mg (0.5 mMol) 5 in 50 ccm Pyridin wurden mit 200 mg (2 mMol) Acetanhydrid behandelt. Nach 15 Stdn. wurde Methanol zugegeben und anschließend zur Trockne eingengt. Spuren von Essigsäure wurden durch Codestillation mit Pyridin entfernt. Die Lösung des Rückstands in 20 ccm Pyridin kochten wir mit 450 mg (2 mMol) P₂S₅ unter heftigem Rühren 4 Stdn. unter Rückfluß, gossen dann in 200 ccm Eiswasser,

¹¹⁾ K. H. Scheit, Chem. Ber. 99, 3884 (1966).

¹²⁾ R. Letters and A. M. Michelson, J. chem. Soc. [London] 1961, 1410.

¹³⁾ Wir bedanken uns aufrichtig für das großzügige Überlassen von 2-Thio-desoxythymidin durch Dr. H. Vorbrüggen, Schering AG (Berlin).

sammelten den Niederschlag und nahmen in Chloroform auf. Das Produkt wurde durch Kieselgelschichtchromatographie der Chloroformphase in Chloroform/Methanol (95 : 5, v/v) abgetrennt, die gelbe Substanz mit Chloroform/Methanol (1 : 1, v/v) vom Kieselgel eluiert, das Eluat eingeeengt und der Rückstand 12 Stdn. bei 0° mit methanolischem *Ammoniak* behandelt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels gab der Rückstand aus Wasser 90 mg (60%) gelbe Nadeln. Schmp. 157°. — *pK* 7.70.

$C_{10}H_{14}N_2O_3S_2$ (274.4) Ber. C 43.77 H 5.14 N 20.21 S 23.37

Gef. C 43.56 H 5.32 N 10.17 S 23.17

UV (Wasser, pH 5.5): λ_{max} 345 m μ (ϵ $1 \cdot 10^4$), 284 ($1.98 \cdot 10^4$).

Tab. 2. Relative R_F -Werte^{a)} bei der Kieselgeldünnschichtchromatographie

| Verbindung | Lösungsmittel ^{b)} | |
|--|-----------------------------|------|
| | 1 | 2 |
| 2.4-Dithio-5-methyl-uridin (3) | 4.06 | 1.56 |
| 2.4-Dithio-desoxythymidin (7) | 4.56 | 1.58 |
| 2.4-Dithio-uridin | 3.56 | 1.36 |
| 2-Thio-desoxythymidin (6) | 3.62 | 1.50 |
| 3'- <i>O</i> -Acetyl- <i>O</i> ² .5'-anhydro-desoxythymidin (4) | 4.55 | 0.69 |
| 5'- <i>O</i> -Methansulfonyl-3'- <i>O</i> -acetyl-desoxythymidin | 5.55 | 1.22 |
| 3'- <i>O</i> -Acetyl-2-thio-desoxythymidin (5) | 5.0 | 1.58 |

^{a)} Alle R_F -Werte sind bezogen auf die Beweglichkeit von Uridin.

^{b)} Lösungsmittel 1: Chloroform/Methanol (85 : 51, v/v), Lösungsmittel 2: Butanol/Wasser (86 : 14, v/v).

[450/69]