

Die 5'-Carboxylgruppe als Schutzfunktion bei Nucleosidumwandlungen. Synthese von 2'-Desoxyadenosin¹⁾

Richard R. Schmidt*, Rudolf Machat²⁾ und Ulrich Schloz³⁾

Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung der Universität Stuttgart, D-7000 Stuttgart-1, Azenbergstraße 14

Eingegangen am 29. Dezember 1972

Die nahezu quantitative Umwandlung von 2',3'-*O*-Isopropylidenadenosin (**1**) in die Adenosin-5'-carbonsäureester **2b, c** und die unter bestimmten Voraussetzungen mögliche spezifische Reduktion der 5'-Alkoxy-carbonylgruppe zur 5'-Hydroxymethylgruppe macht die Carboxylgruppe zu einer Schutzfunktion eigener Art, die dem gebräuchlichen Schutz der 5'-Hydroxymethylgruppe überlegen sein kann. Dies wird am Beispiel der Synthese von 8-Brom-2'-*O*-tosyladenosin (**8**) gezeigt. **8** ist eine wichtige Zwischenstufe zur Synthese von 2'-Desoxyadenosin (**9**).

The Protective Function of the 5'-Carboxy Group in Nucleoside Transformations. Synthesis of 2'-Deoxyadenosine¹⁾

The nearly quantitative transformation of 2',3'-*O*-isopropylidenadenosine (**1**) to adenosine-5'-carboxylates **2b, c** and the specific reduction of the 5'-alkoxy-carbonyl group to the 5'-hydroxymethyl group under certain conditions renders the carboxy group useful as protective agent, the effect of which can be superior to the common protection of the 5'-hydroxymethyl group of nucleosides. This is illustrated in the synthesis of 8-bromo-2'-*O*-tosyladenosine (**8**). **8** is an important intermediate for the synthesis of 2'-deoxyadenosine (**9**).

Der Schutz von funktionellen Gruppen bei polyfunktionellen Molekülen kann nur dann als erfolgreich betrachtet werden, wenn Einführung und Abspaltung der Schutzgruppe ohne nennenswerte Veränderung des Moleküls und außerdem möglichst quantitativ verlaufen.

Zum Schutz der freien Hydroxylgruppen bei Nucleosiden und Nucleotiden wird überwiegend die Verätherung, Acetalbildung und Veresterung herangezogen⁴⁾. Wir berichten für die häufig zu schützende 5'-Hydroxymethylgruppe über einen Schutz besonderer Art durch vorübergehende Überführung in die Carboxy- bzw. Alkoxy-carbonylgruppe und Regenerierung durch spezifische Reduktion. Dieses Verfahren ist überraschenderweise den oben genannten Methoden unter bestimmten Voraussetzungen überlegen.

1) 4. Mitteilung über Nucleosid-5'-carbonsäuren. 1.—3. Mitteil. s. I. c. 5–7).

2) R. Machat, aus der geplanten Dissertation, Univ. Stuttgart.

3) U. Schloz, Teil der Dissertation, Univ. Stuttgart 1970.

4) J. A. Montgomery und A. J. Thomas, Advan. Carbohydr. Chem. 17, 301 (1962).

Herstellung und Reaktionen der Nucleosid-5'-carbonsäureester

Zum selektiven Schutz der 5'-Hydroxymethylgruppe wird im allgemeinen von 2',3'-geschützten Nucleosiden, so z. B. vom 2',3'-*O*-Isopropylidenadenosin (**1**), ausgegangen. **1** ist auch ideale Ausgangskomponente für die Synthese der Adenosin-5'-carbonsäure (**2a**) und deren Ester **2b**, **c**⁵⁻⁷). Die von uns eingeführte Oxidation mit Kaliumpermanganat und die simultane Veresterung und Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe führt in mindestens 90proz. Gesamtausbeute zum Methylester **2b**⁷). Die von *Todd* et al.⁸) beschriebene Direkt-Oxidation von Adenosin mit Sauerstoff und Platindioxid zur Carbonsäure **2a** ist infolge der geringeren Ausbeute und infolge des apparativ aufwendigen Verfahrens keine Alternative mehr.

Die Carbonsäureester (**2**; R = Alkyl) stellen nicht nur funktionelle Verbindungen eigener Art dar⁵⁻⁷), sondern sie sind geeignete Modelle für die Konformationsanalyse der glykosidischen Bindung^{6,7,9}). Im Rahmen dieser Untersuchungen war eine weitere Einführung funktioneller Gruppen in dieses Molekül notwendig, insbesondere interessierten Bromierung, Tosylierung und Mesylierung. Das elektrophile Brom sollte beim Ester **2c** bevorzugt das 4'- oder das 8-H-Atom substituieren. Von beiden Möglichkeiten wird unter den angewandten Reaktionsbedingungen nur die letzte beschritten und 8-Bromadenosin-5'-carbonsäure-isopropylester (**3**) gebildet.

Die Tosylierung der Hydroxylgruppen von **2b** läßt wie beim 5'-*O*-Acyladenosin^{10,11}) ein Gemisch aus drei Produkten, nämlich den zwei isomeren monotosylierten und dem ditosylierten Produkt erwarten. Überraschenderweise trat jedoch neben der 2'-*O*-Tosyl-Verbindung **4b**, dem Hauptprodukt, nur wenig 2',3'-*O*-tosyl-Verbindung **5b** und keine 3'-*O*-Tosyl-Verbindung auf. Bei geeigneter Reaktionsführung gelingt es sogar, durch einmaliges Umkristallisieren des Reaktionsgemisches **4b** in guter Ausbeute zu erhalten. Umgekehrt wird bei der Mesylierung von **2b** praktisch nur die Dimesyl-Verbindung **5d** erhalten. Sterische und elektronische Faktoren dürften Ursachen dieses Reaktionsverhaltens sein⁹). Die bevorzugte Tosylierung von **2b** an der 2'-Hydroxylgruppe zu **4b** ist infolge der geringen Beweglichkeit der Tosylgruppe³) durch die Folgereaktionen gesichert (s. u.).

Die Ester **4b**, **5b** und **d** können in 1 N HCl bei geeigneter Wahl der Reaktionsbedingungen trotz der Säureempfindlichkeit der glykosidischen Bindung in die entsprechenden Carbonsäuren **4a**, **5a** und **c** übergeführt werden. Versuche, über die Carboxylate eine intramolekulare nucleophile Substitution zumindest an der sterisch günstigeren 2'-Position unter Konfigurationsumkehr und Bildung von γ -Lactonen zu erreichen, blieben bis jetzt erfolglos. Demgegenüber gelingt die Eliminierung von zwei Molekülen Toluol- bzw. Methansulfonsäure aus **5b** bzw. **d** zum Furanderivat **6** glatt.

⁵) R. R. Schmidt, U. Schloz und D. Schwille, Chem. Ber. **101**, 590 (1968).

⁶) R. R. Schmidt und H. J. Fritz, Chem. Ber. **103**, 1867 (1970).

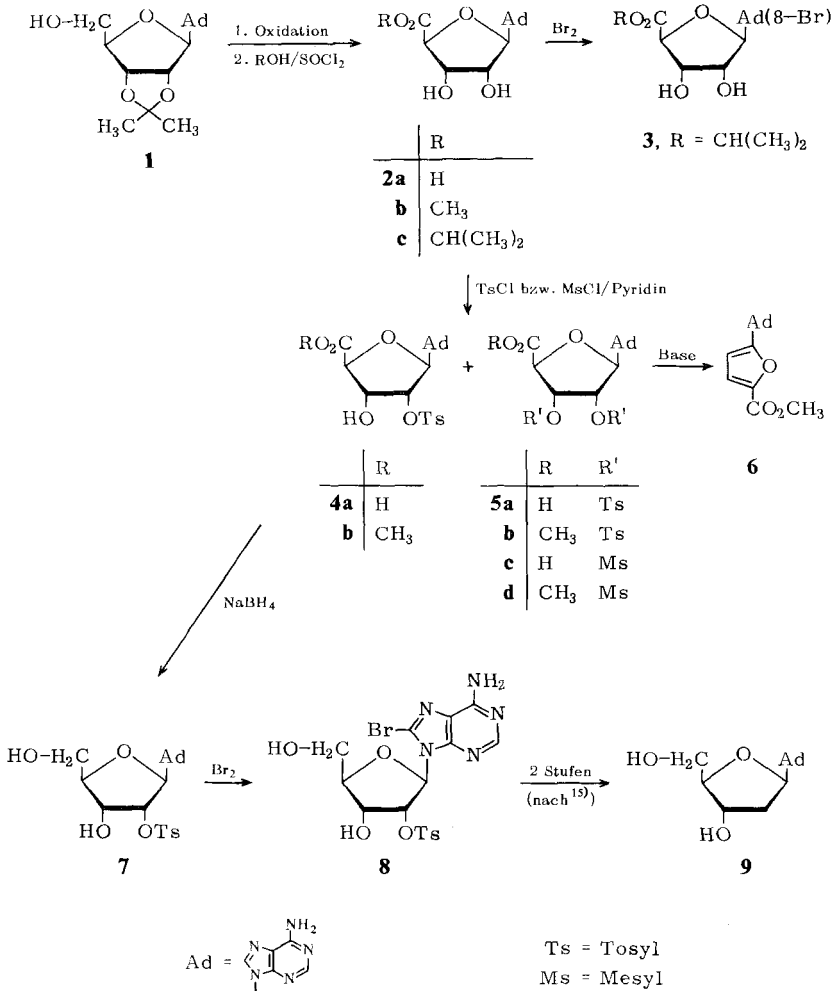
⁷) H. J. Fritz, R. Machat und R. R. Schmidt, Chem. Ber. **105**, 642 (1972).

⁸) G. P. Moss, C. B. Reese, K. Schofield und A. R. Todd, J. Chem. Soc. **1963**, 1149.

⁹) R. R. Schmidt, H. J. Fritz und R. Machat, Veröffentlichung in Vorbereitung.

¹⁰) A. Todd und T. L. V. Ulbricht, J. Chem. Soc. **1960**, 3275.

¹¹) D. M. Brown, L. J. Haynes und A. R. Todd, J. Chem. Soc. **1950**, 3299.



Synthese von 2'-Desoxyadenosin (9)

Die durch die beschriebenen Reaktionen gewonnenen funktionellen Derivate **3–5** der Adenosin-5'-carbonsäure **2a** sind über diese Substanzklasse hinaus von Bedeutung, wenn es gelingt, auf dieser Stufe die Carboxylgruppe in die Hydroxymethylgruppe der Adenosin-Derivate zurückzuführen. Von den Hydrid übertragenden Reagentien kann jedoch infolge des Vorhandenseins anderer hydrogenolytisch reagierender Bindungen nur ein sehr mildes Reagens hoher Selektivität in Frage kommen.

Dieses ideale Reagens fanden wir im Natriumborhydrid. Ester werden im allgemeinen vom Natriumborhydrid nicht reduziert, ist jedoch eine funktionelle Gruppe sterisch günstig zur Alkoxy-carbonylgruppe angeordnet, dann kann durchaus eine

Reaktion stattfinden^{12,13}). Dies ist beim 2'-*O*-Tosylester **4b** mit einer freien 3'-Hydroxylgruppe offensichtlich der Fall, obwohl aus NMR- und IR-Untersuchungen⁹) folgt, daß im Grundzustand die für eine Komplexbildung des Boranats zwischen der Hydroxylgruppe und der Alkoxy-carbonylgruppe sterisch ungünstige *C*'-endo-Konformation^{9,14}) des Ribofuranoseringes überwiegt. Aus **4b** wird so in praktisch quantitativer Reaktion das von *Todd* et al.¹⁰) auf andere Weise synthetisierte 2'-*O*-Tosyladenosin **7** erhalten; gleichzeitig wird durch diese Reaktion die Struktur von **4b** gesichert.

Für die Bedeutung einer freien Hydroxylgruppe in 3'-Position zur Komplexbildung mit dem Boranat spricht, daß sich die in 3'-Position blockierten Ester **5b** und **d** nicht analog reduzieren lassen. Für die Synthese von **7** ist dies jedoch ein entscheidender Vorteil. Der geringe Anteil an **5b** bei der Tosylierung von **2b** bei tiefer Temperatur (s. Methode B) zu **4b** braucht nicht chromatographisch abgetrennt zu werden. Die Spezifität der Reduktion von **4b** zu **7** und die gleichzeitige Verseifung von **5b** zu **5a** führt zur quantitativen Trennung der beiden Komponenten auf dieser Stufe.

Das auf diese Weise bequem zugängliche 2'-*O*-Tosyladenosin **7** kann über eine Bromierung in 8-Position leicht in das 8-Brom-2'-*O*-tosyladenosin (**8**) übergeführt werden; **8** ist eine wichtige Zwischenstufe auf dem von *Ikehara* et al.^{15,16}) beschriebenen, bislang besten Weg¹⁷) zur Synthese von 2'-Desoxyadenosin **9**. Die Gesamtausbeute an **8** ausgehend von **1** ist beim zumindest ebenso bequem durchführbaren Carbonsäureester-Verfahren mit 40–45% jedoch deutlich höher als beim Verfahren von *Ikehara* et al.¹⁵) mit 13%, das zum Schutz der 5'-Hydroxylgruppe eine Acylgruppe heranzieht. **9** wird damit in einer Gesamtausbeute von ungefähr 10% zugänglich.

Wir danken Herrn Professor Dr. *H. Brederick* für die Förderung dieser Arbeit. Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die finanzielle Unterstützung unserer Untersuchungen und den *Papierwerken Waldhof-Aschaffenburg* für die Überlassung von Ausgangsmaterialien.

¹²) *E. Schenker*, Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie (Herausgeber *W. Foerst*), Bd. IV, S. 173, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1966.

¹³) *E. C. Pesterfield* und *D. M. S. Wheeler*, *J. Org. Chem.* **30**, 1513 (1965).

¹⁴) *T. Schleich*, *B. J. Blackburn*, *R. D. Lapper* und *I. C. P. Smith*, *Biochemistry* **11**, 137 (1972), und dort zit. Lit.

¹⁵) *M. Ikehara* und *H. Tada* in *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry* (Herausgeber *W. W. Zorbach* und *R. S. Tipson*), Bd. 1, S. 188, John Wiley and Sons, New York 1968.

¹⁶) In l. c.¹⁵) wird **8** im Formelbild und Schriftsatz irrtümlicherweise als 5'-*O*-Acetyl-8-brom-2'-*O*-tosyladenosin (s. dort Formel **5a**) aufgeführt, obwohl die 5'-*O*-Acyl-Schutzgruppe bereits ammoniakalisch entfernt worden ist.

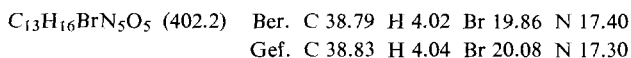
¹⁷) Die Gesamtausbeute an **9**, bezogen auf eingesetztes **1**, beträgt nach l. c.¹⁵) 2,7%. Alle übrigen in der Literatur bekannt gewordenen Verfahren (s. l. c.¹⁵) und dort zit. Lit.) liegen, bezogen auf allgemein zugängliche Ausgangskomponenten, unter 1% oder sind an die Durchführung von chromatographischen und enzymatischen Methoden geknüpft¹⁸).

¹⁸) *M. Ikehara* und *S. Vesugi*, *Tetrahedron Lett.* **1970**, 713; Gesamtausbeute an **9**, bezogen auf eingesetztes AMP·Na₂ ungefähr 6%.

Experimenteller Teil

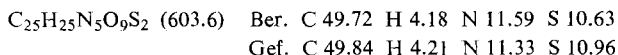
*Adenosin-5'-carbonsäure-methylester (2b)*⁷⁾ und *-isopropylester (2c)*⁷⁾ wurden aus 2',3'-O-Isopropylidenadenosin-5'-carbonsäure^{5,7)} nach dem von uns beschriebenen Verfahren (l. c.⁷⁾, Methode B) mit mindestens 90% Ausb. erhalten.

8-Bromadenosin-5'-carbonsäure-isopropylester (3): 323 mg (1 mmol) **2c** wurden in einer Mischung aus 50 ml Dioxan und 0.4 g NaH₂PO₄·2H₂O sowie 1 g Na₂HPO₄·12H₂O in 50 ml Wasser gelöst. Dazu wurden 192 mg (1.2 mmol) Brom gegeben. Nach 16 h wurde das Reaktionsgemisch mit Chloroform unter Zugabe von Kochsalz extrahiert, die organische Phase mit wenig NaHSO₃-Lösung gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Festprodukt wurde aus Benzol umkristallisiert. Ausb. 321 mg (80%), Schmp. 84–87°C. Die Struktur von **3** ist durch den Wegfall des 8-H-NMR-Signals im Vergleich mit **2c** gesichert.

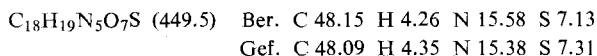


2'-O-Tosyladenosin-5'-carbonsäure-methylester (4b) und *2',3'-Di-O-tosyladenosin-5'-carbonsäure-methylester (5b)*

Methode A: 1.47 g (5 mmol) **2b** in 20 ml absol. Pyridin wurden bei 20°C mit 1.14 g (6 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid versetzt. Es wurde 20 h bei Raumtemp. gerührt und dann das Pyridin i. Vak. abdestilliert. Der gelbe, ölige Rückstand wurde an Kieselgel mit Chloroform/Methanol (8:1) chromatographiert. Die erste Fraktion war **5b** (DC/SiO₂/Chloroform-Methanol = 8:1, R_F 0.79), das aus Chloroform/Methanol (1:1) umkristallisiert wurde. Ausb. 378 mg (31%); Schmp. 178°C.

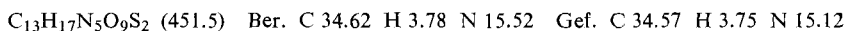


Die zweite Fraktion war **4b** (DC/SiO₂/Chloroform-Methanol = 8:1, R_F 0.62), aus Chloroform/Methanol (1:1) Ausb. 959 mg (43%); Schmp. 135°C.



Methode B: 1.47 g (5 mmol) **2b** in 100 ml absol. Pyridin wurden bei –20°C mit 1.14 g (6 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid versetzt. Nach 20 Tagen bei –20°C wurde das Pyridin i. Hochvak. abdestilliert, das Reaktionsgemisch mit 50 ml CHCl₃ und 50 ml gesätt. NaHCO₃-Lösung versetzt und die wäßr. Phase noch zweimal mit je 50 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden zweimal mit wenig Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und eingeeengt. Bei diesem Verfahren schieden sich 0.44 g unumgesetztes **2b** als Feststoff zwischen der Wasser- und der Chloroformphase ab. Aus der organischen Phase wurden 1.13 g (72%, bezogen auf umgesetztes **2b**) **4b** erhalten, nur geringfügig mit **5b** verunreinigt. Schmp. 132–133°C, aus Chloroform/Methanol (1:1) analytisch rein, Schmp. 135°C.

2',3'-Di-O-mesyladenosin-5'-carbonsäure-methylester (5d): 295 mg (1 mmol) **2b** wurden nach Methode A mit 137 mg (1.2 mmol) Methansulfonylchlorid umgesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde an Kieselgel mit Chloroform/Methanol (8:1) chromatographiert. Neben **2b** wurde als Hauptprodukt **5d** erhalten, das aus Chloroform/Methanol (1:1) umkristallisiert wurde. Ausb. 266 mg (59%); Schmp. 187°C.



2'-O-Tosyladenosin-5'-carbonsäure (4a): 449 mg (1 mmol) **4b** wurden in 10 ml (10 mmol) N HCl, die auf 70°C erwärmt war, suspendiert und bei 70°C 20 min unter Rühren erwärmt.

Die entstandene klare Lösung wurde in eine Lösung von 1.0 g (12 mmol) NaHCO_3 und 15 g Wasser eingegossen, die trübe Lösung mit 50 mg Aktivkohle filtriert und dann mit N HCl auf pH 4.6 gebracht. Die ausgeschiedene Fällung wurde abfiltriert, getrocknet und aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 375 mg (86%), Schmp. 206–210°C (Zers.).

$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$ (435.4) Ber. C 46.84 H 3.94 N 16.08 S 7.35
Gef. C 46.84 H 4.00 N 15.87 S 7.17

2',3'-Di-O-tosyladenosin-5'-carbonsäure (5a): Wie vorstehend aus **5b**, Reaktionstemp. 80°C, Reaktionszeit 45 min; Ausb. 64%, Schmp. 179°C (aus Äthanol).

$\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_2$ (589.6) Ber. C 48.91 H 3.94 N 11.92 S 10.92
Gef. C 48.64 H 4.08 N 11.73 S 11.14

2',3'-Di-O-mesyladenosin-5'-carbonsäure (5c): Aus **5d** wie bei **4a**, Reaktionstemp. 80°C, Reaktionszeit 35 min, Ausb. 345 mg (79%) (aus Methanol); die Substanz sintert ab 145°C zusammen.

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_2$ (437.4) Ber. C 32.99 H 3.46 N 16.01 Gef. C 33.13 H 3.56 N 15.80

5-(9-Adenyl)-2-furancarbonsäure-methylester (6): 604 mg (1 mmol) **5b** wurden in 20 ml Dimethylformamid mit 246 mg (2.2 mmol) Kalium-*tert*-butylat 8 h auf 100°C erhitzt. Anschließend wurde in 100 ml Wasser gegossen, mit verd. Salzsäure neutralisiert und mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen mit Na_2SO_4 wurde eingengt und das Festprodukt aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 158 mg (61%).

$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}_3$ (259.2) Ber. C 50.96 H 3.50 N 27.02 Gef. C 50.80 H 3.60 N 26.85

Analog reagiert **5d**.

2'-O-Tosyladenosin (7): 450 mg (1 mmol) **4b** in 5 ml Dimethylformamid wurden mit 75 mg (2 mmol) in 5 ml Wasser gelöstem Natriumborhydrid versetzt. Nach 15 h bei 20°C wurde nochmals die gleiche Menge Natriumborhydrid in Wasser zugesetzt. Nach weiteren 5 h wurde der Überschuß an NaBH_4 mit wenigen Tropfen Eisessig zerstört und das Gemisch mit Essigsäure auf pH 5.0 eingestellt. Nach Zugabe von 10 ml Wasser schieden sich allmählich farblose Kristalle von **7** ab. Die Umkristallisation war aus Wasser möglich. Ausb. 380 mg (90%), Schmp. 231°C (Zers.) (Lit.¹⁰): 228°C), identisch mit einer nach l. c.¹⁰ hergestellten Probe.

8-Brom-2'-O-tosyladenosin (8): 300 mg (0.72 mmol) **7** wurden in 30 ml Dioxan und einer Mischung aus 270 mg $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 680 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ gelöst und mit 160 mg (1 mmol) Brom 14 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit 20 ml gesätt. NaCl -Lösung versetzt und mit 50 ml Chloroform extrahiert, die organische Phase abgetrennt und die wäßr. Phase noch zweimal mit je 50 ml Dioxan/ CHCl_3 (1:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet und das Reaktionsprodukt aus 50proz. wäßr. Isopropylalkohol umkristallisiert. Ausb. 270 mg (76%), Schmp. 218°C (Zers.) (Lit.¹⁵): 220–223°C, Zers.). **8** ist mit einer nach l. c.¹⁵ hergestellten Probe identisch.