

## Die Camptothecin-Oxidation

Karsten Krohn, Heinrich-Wilhelm Ohlendorf und Ekkehard Winterfeldt\*

Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität Hannover,  
D-3000 Hannover, Schneiderberg 1B

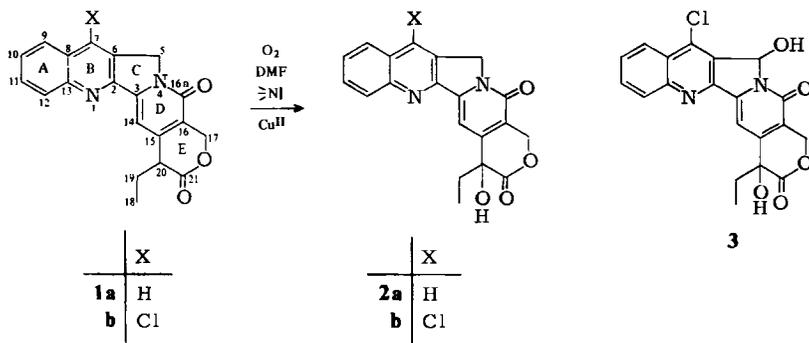
Eingegangen am 27. August 1975

Die Anwendungsbreite und die Selektivität der autoxidativen Überführung von Desoxycamptothecin- in Camptothecin-derivate wird untersucht.

### The Camptothecine Oxidation

The scope and the selectivity of the autoxidative transformation of desoxycamptothecine- into camptothecine derivatives are investigated.

Im Zuge der Totalsynthese des Camptothecins (**2a**) bzw. 7-Chlorcamptothecins (**2b**)<sup>1)</sup> machten wir die Beobachtung, daß die entsprechenden Desoxyverbindungen **1a** und **b** in Dimethylformamid beim Durchleiten von Sauerstoff sehr glatt hydroxyliert werden, wenn primäre, sekundäre oder tertiäre Amine und Cu<sup>II</sup>-Ionen zugegen sind.



Diesen Prozeß näher zu studieren, gab es eine ganze Reihe von Gründen: Erstens verläuft er überaus rasch und unter sehr milden Bedingungen, so daß es interessant schien, die strukturellen Randbedingungen für diese Reaktion abzustecken; zweitens ist diese Reaktion mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit bei der Biogenese<sup>2)</sup> involviert; drittens wird bei diesem Prozeß das entscheidende Chiralitätszentrum des Camptothecins erzeugt, so daß eine genaue Kenntnis dieser Oxidation für die Planung und Vorbereitung einer enantioselektiven Synthese sicher eine notwendige Voraussetzung ist; viertens und letztens war bei der Oxidation des 7-Chlor-desoxycamptothecins (**1b**) die unerwartete Beobachtung

<sup>1)</sup> M. Boch, T. Korth, J. M. Nelke, D. Pike, H. Radunz und E. Winterfeldt, Chem. Ber. 105, 2126 (1972).

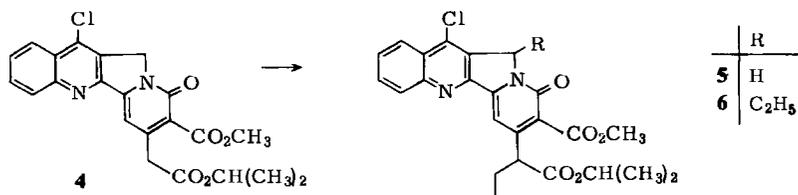
<sup>2)</sup> R. Hutchinson, G. O. Loughlin, R. T. Brown und S. B. Fraser, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1974, 928.

gemacht worden, daß hier die Autoxidation einen etwas anderen Verlauf nimmt als beim Desoxycamptothecin (**1a**).

Während **1a** rasch und mit hoher Selektivität das Camptothecin **2a** liefert – eine Verbindung, die unter den Bedingungen der Reaktion für lange Zeit stabil ist –, kann die Reaktion bei **1b** grundsätzlich unter Weiteroxidation zu einer Dihydroxyverbindung führen, die unter geeigneten Reaktionsbedingungen in guter Ausbeute das einzige Reaktionsprodukt ist (s. exp. Teil). Die im Dünnschichtchromatogramm erkennbare höhere Polarität dieses neuen Oxidationsproduktes signalisiert bereits den Einbau einer weiteren Hydroxylgruppe, das Massenspektrum bestätigt diese Vermutung durch ein um 16 Masseneinheiten vergrößertes Molekül-Ion, und das Kernresonanzspektrum schließlich beweist durch das Fehlen der typischen Zwei-Protonen-Resonanz der  $\text{CH}_2$ -Gruppe an C-5 ( $\tau \approx 4.2$ ) und durch das Auftreten eines Ein-Protonen-Signals bei  $\tau 2.42$  die Konstitution **3** für dieses Oxidationsprodukt.

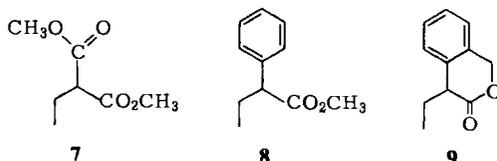
Über die relative Konfiguration dieser Verbindung kann zur Zeit keine Aussage gemacht werden. Sicher ist lediglich, daß DC- und NMR-Daten die sterische Einheitlichkeit belegen.

Die basenkatalysierte Zweitoxidation an C-5 verwundert nicht mehr, nachdem wir anlässlich einer kürzlich publizierten Studie<sup>3)</sup> der Alkylierungsreaktionen des Diesters **4** festgestellt hatten, daß die Zweitalkylierung von **4**, ebenfalls an C-5 stattfindend, die Diäthylverbindung **6** erzeugt, die auch ausgehend von der Monoäthylverbindung **5** erhalten werden kann.



Dieser Ausgang belegt die CH-Acidität der 5-Position und zeigt, daß auch ein solches Zentrum mit Hilfe der  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Technik hydroxyliert werden kann.

Der Schluß, daß somit wohl eine große Zahl CH-acider Verbindungen diesem Beispiel folgend in Hydroxylierungsprodukte überführbar sein sollten, erweist sich indessen als voreilig. Die Modellverbindungen **7**<sup>4)</sup>, **8**<sup>5)</sup> und **9**<sup>6)</sup> überstehen Bedingungen, die **2a** bzw. **b** glatt erzeugen, völlig unangefochten.



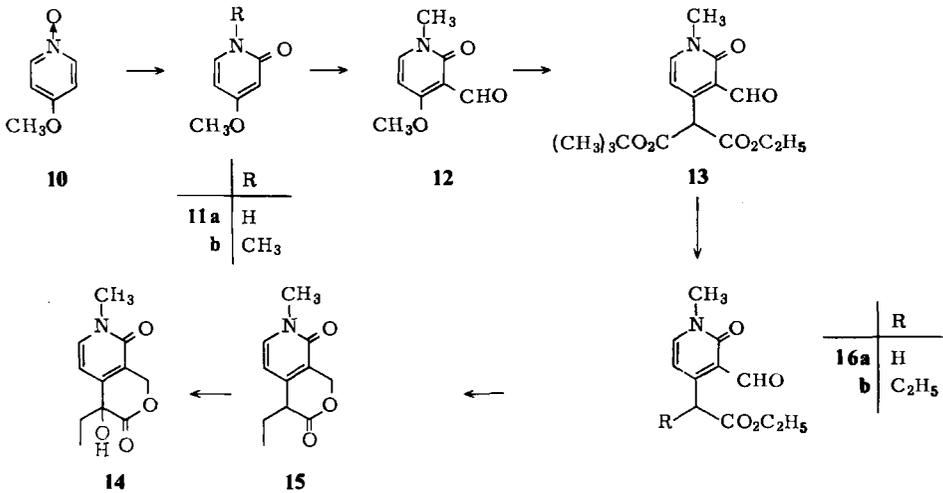
<sup>3)</sup> K. Krohn und E. Winterfeldt, Chem. Ber. **108**, 3030 (1975).

<sup>4)</sup> Beilsteins Handbuch der org. Chemie, 4. Aufl., 2. Erg.-Werk, 2. Bd., S. 570, Springer-Verlag, Berlin 1942.

<sup>5)</sup> Beilsteins Handbuch der org. Chemie, 4. Aufl., 3. Erg.-Werk, 9. Bd., S. 2462, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1971.

<sup>6)</sup> Dargestellt nach G. A. Swan, J. Chem. Soc. **1949**, 1722.

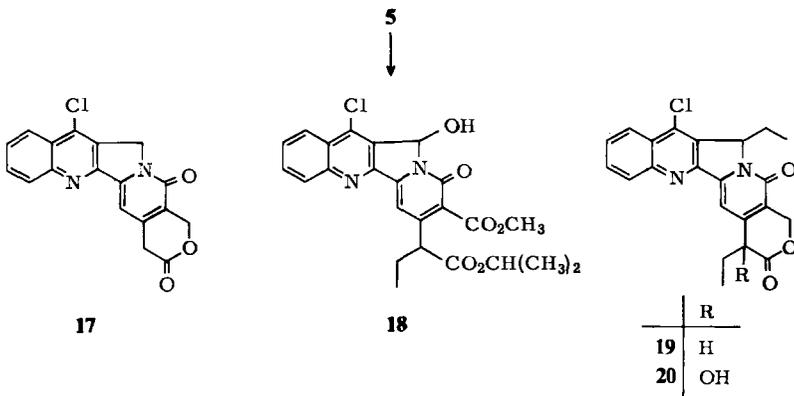
Somit synthetisierten wir in Anlehnung an ein Verfahren von *Sugasawa*<sup>7)</sup> das näherliegende Modell **15**, ausgehend von dem sehr gut zugänglichen *N*-Oxid **10** über die Stufen **11**, **12**, **13** und **16**.



Diese Substanz erwies sich dann wieder als sehr leicht oxidierbar und wurde glatt in **14** übergeführt.

Die Kombination von  $\alpha$ -Pyridon- und Lactonsystem scheint also eine wichtige Voraussetzung für den Hydroxylierungsprozeß zu sein.

Die Frage nach der Bedeutung des Lactonringes sollte an den über den Alkylierungsschritt gut zugänglichen ringoffenen Diestern **5** und **6** leicht zu überprüfen sein. Um zusätzlich zu klären, ob das tertiäre Zentrum im Lactonring wichtig ist, sollten die Verbindung **4** sowie das nicht alkylierte Lacton **17** in die Untersuchungen mit einbezogen werden. Das Versagen der Reaktion bei **4** und die zu sehr polaren Folgeprodukten führende Oxidation bei **17** unterstreichen die Wichtigkeit der tertiären Position.



<sup>7)</sup> *T. Sugawara, K. Sasakura und T. Toyoda, Chem. Pharm. Bull.* **22**, 763 (1974).

Der ringoffene Diester **5** dagegen wird grundsätzlich hydroxyliert, wenn auch mit etwas geringerer Geschwindigkeit als die entsprechenden Lactone, und das Massenspektrum des Oxidationsproduktes belegt, daß es sich um eine Monohydroxyverbindung handeln muß. Die Analyse des Kernresonanzspektrums läßt allerdings keinen Zweifel, daß das tertiäre Zentrum C-20 unangetastet geblieben ist. Das Triplet des Protons  $H_x$  erscheint nämlich unverändert bei  $\tau$  6.31, während das Zwei-Protonen-Signal der  $CH_2$ -Gruppe an C-5 verschwunden und durch ein Ein-Protonen-Signal bei  $\tau$  2.97 ersetzt ist. Diese Daten sind nur mit der Konstitution des Monohydroxylierungsproduktes **18** vereinbar, das im übrigen stabil ist und auch bei längeren Reaktionszeiten nicht weiteroxidiert wird.

Das Vorliegen des Lactonringes ist demnach eine unerläßliche Voraussetzung für die Hydroxylierung an C-20.

Die aus **4** oder **5** leicht darstellbare Diäthylverbindung **6** wird dann schließlich überhaupt nicht mehr hydroxyliert, hier liegt kein Lactonring vor, und das C-Atom 5 ist wohl wegen sterischer Hinderung nicht mehr angreifbar. Der fünfgliedrige Ring wird also nach Substitution in der  $CH_2$ -Gruppe nicht mehr oxidiert.

Um diese Erkenntnisse noch an einem weiteren Molekül zu überprüfen, wurde auch das aus **6** leicht darstellbare Diäthyl-Lacton **19** (Stereoisomerengemisch!) der Oxidation unterworfen; erwartungsgemäß bildet sich jetzt die Monohydroxyverbindung **20** (Stereoisomerengemisch), bei der ausschließlich die tertiäre Position im Lactonring hydroxyliert wird.

Zusammenfassend kann somit festgestellt werden, daß Verbindungen, die den alkylierten Lactonring des Camptothecins tragen, rasch und vorzugsweise an dieser tertiären Position hydroxyliert werden. Liegt ein Substituent an C-7 des Chinolinteils vor, so erfolgt Weiteroxidation unter Angriff auf die  $CH_2$ -Gruppe des Ringes C. Ist der Lactonring nicht ausgebildet, so wird bei unsubstituierten Verbindungen an C-5 hydroxyliert.

Nachdem diese Einzelheiten über den Reaktionsverlauf bekannt waren, haben wir abschließend noch geprüft, ob auch optisch aktive Alkaloide den Oxidationsprozeß katalysieren können. Als sehr wirksame Basen erwiesen sich Spartein und Ephedrin. In polaren Solventien wurde allerdings auch hier eine rasche Weiteroxidation zur Dihydroxyverbindung **3** beobachtet. In Dioxan bei Verwendung katalytischer Mengen Spartein gelingt jedoch selektive Hydroxylierung an C-20. Nur im Falle des Ephedrins wurde jedoch bisher reproduzierbar eine geringe optische Drehung beim Reaktionsprodukt gemessen. Die naheliegende Absenkung der Reaktionstemperatur zur Verbesserung der optischen Ausbeute stößt leider bisher noch auf erhebliche Schwierigkeiten, deren Ursache vor allem in der schlechten Löslichkeit von Edukt und Produkt zu suchen ist.

Die Tatsache jedoch, daß der Drehsinn des erhaltenen Produktes der natürlich konfigurierten Serie entspricht, ermutigt uns, das Studium dieses enantioselektiven Prozesses fortzusetzen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir sehr für stete Förderung dieser Arbeiten, dem Fonds der Chemischen Industrie sei für Sachmittel gedankt.

### Experimenteller Teil

IR-Spektren (in Chloroform bzw. als KBr-Preßling): Perkin-Elmer 457. UV-Spektren (in Methanol): Beckman DB-GT. Kernresonanzspektren: Varian HA 100, Tetramethylsilan diente als Locksubstanz. Die elektronisch integrierten Protonenzahlen stehen in Klammern. Die Massen-

spektren wurden mit dem CH-5 der Firma Varian MAT bei 70 eV und bei den jeweils angegebenen Temperaturen aufgenommen. Bei der Dünnschichtchromatographie dienten die Systeme Methylchlorid/5% Methanol für die Camptothecinserie und Methanol/Methylchlorid/Aceton (10:7:3) für die Modellverbindungen als Laufmittel. Die Schmelzpunkte wurden mit der Kofler-Bank ermittelt und sind in den meisten Fällen Zersetzungspunkte. Die Analysen verdanken wir Frau E. Jirotkova im mikroanalytischen Labor des Organisch-Chemischen Instituts der Technischen Universität Hannover.

Die hochaufgelösten Massenspektren wurden mit einem AEI MS 30 bei der Gesellschaft für Molekularbiologische Forschung mbH, Stöckheim über Braunschweig, angefertigt\*).

*7-Chlor-camptothecin-5-ol* (3): 10 mg 7-Chlorcamptothecin (1b) in 5 ml Dimethylformamid versetzte man mit 7 mg CuCl<sub>2</sub> und 54 mg Spartein. Man rührte 1 h unter Sauerstoff, goß in verd. Salzsäure und extrahierte mit Methylchlorid. Die Methylchloridphase wurde mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung sowie gesätt. Natriumchloridlösung gewaschen, sodann über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Aus Methanol/Methylchlorid kristallisierten 9.0 mg (90%) 3. Schmp. 270°C (Zers.).

UV (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 361, 345 (Schulter), 298, 249, 257, 223 nm (ε = 10950, 9820, 5650, 17920, 17920, 24200). – IR (KBr): C=O 1740, Pyridon 1660, 1615, Aromat 1560, 1500 cm<sup>-1</sup>. – NMR (CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D): Aromat. Protonen τ 1.20–1.90 [5] m, O–CH–N 2.42 [1] s, CH<sub>2</sub> 4.28 [2] AB-Quartett (J = 17.5 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 7.86 [2] q (J = 7 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 8.86 [3] tr (J = 7 Hz). – MS (290°C): M<sup>+</sup> 398 ME (100%), 369 (41), 354 (34), 336 (23), 296 (40), 269 (43).

C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Ber. 398.0670 Gef. 398.0618 (MS)

(*3-Formyl-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydro-4-pyridyl*)malonsäure-äthylester-*tert*-butylester (13): Eine Reagenzlösung von 5.7 g Malonsäure-äthylester-*tert*-butylester und 1.3 g Natriumhydrid (55proz. Suspension in Spindelöl) in 200 ml Dioxan, die 30 min unter Stickstoff gerührt wurde, tropfte man zur Lösung von 4.9 g 12 in 100 ml Dioxan. Nach 10stündigem Rühren bei 50°C unter Stickstoff gab man die abgekühlte Lösung auf Eis/Eisessig und extrahierte mit Methylchlorid. Den mit gesätt. NaCl-Lösung geschüttelten und mit Natriumsulfat getrockneten Extrakt befreite man vom Lösungsmittel und chromatographierte über Kieselgel. Nachdem man den überschüssigen Malonester mit Äther von der Säule gewaschen hatte, eluierte man mit Methylchlorid/0.5–2.0% Methanol 4.8–5.7 g des sauberen, aber öligen Produktes. Ausb. 60–70%.

UV (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 366, 315, 234 nm (ε = 5940, 2530, 7370). – IR (CHCl<sub>3</sub>): C=O 1740, 1735, HC=O 1680, Pyridon 1650, 1600 cm<sup>-1</sup>. – NMR (CDCl<sub>3</sub>): CHO τ –0.53 [1] s, Pyridon-H 2.35 [1] d (J = 7.5 Hz), Pyridon-H 3.63 [1] d (J = 7.5 Hz), CH 4.08 [1] s, CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 5.73 [2] q (J = 7 Hz), NCH<sub>3</sub> 6.38 [3] s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 8.50 [9] s, CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 8.70 [3] tr (J = 7 Hz). – MS (90°C): M<sup>+</sup> 323 ME (10%), 266 (95), 222 (40), 220 (100), 204 (75), 194 (60), 176 (70).

C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub> (323.3) Ber. C 59.44 H 6.54 N 4.33 Gef. C 59.44 H 6.50 N 4.33

(*3-Formyl-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydro-4-pyridyl*)essigsäure-äthylester (16a): 2.0 g 13 löste man in 45 ml Methylchlorid, versetzte mit 5.0 ml Trifluoressigsäure und kochte 45 min unter Rückfluß. Nachdem man zur Trockne gedampft hatte, nahm man den Rückstand auf, schüttelte mit gesätt. NaCl-Lösung neutral und trocknete mit Natriumsulfat. Aus der Chromatographie an Kieselgel erhielt man mit Methylchlorid/1% Methanol 910 mg (80%) des öiligen Produktes.

UV (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 358, 320 (Schulter), 232 nm (qualitativ). – IR (CHCl<sub>3</sub>): C=O 1725, HC=O 1680, Pyridon 1645, 1590 cm<sup>-1</sup>. – NMR (CDCl<sub>3</sub>): CHO τ –0.56 [1] s, Pyridon-H 2.43 [1] d (J = 7.5 Hz), Pyridon-H 3.86 [1] d (J = 7.5 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 5.82 [2] q (J = 7 Hz), CH<sub>2</sub> 6.04 [2] s, NCH<sub>3</sub> 6.38 [3] s, CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 8.72 [3] tr (J = 7 Hz). – MS (75°C): M<sup>+</sup> 195 ME (30%), 178 (40), 166 (24), 138 (30), 123 (100).

\* Den Herren Dr. Schiebel und Dr. Grotjahn sind wir für die Aufnahme und Auswertung dieser Spektren sehr dankbar.

„Des-ABC-camptothecin“ (14): 80 mg **16a** löste man in 5 ml Dimethylformamid und 2.4 ml *tert*-Butylalkohol und rührte mit 30 mg Lithiumhydrid 60 min bei Raumtemp. unter Stickstoff. Dann tropfte man 0.08 ml Äthyljodid zu. Nach 20stündigem Rühren unter Stickstoff gab man die Reaktionslösung auf Eis/Eisessig und extrahierte mit Methylenchlorid. Den mit gesätt. NaCl-Lösung geschüttelten, mit Natriumsulfat getrockneten und zur Trockne gedampften Extrakt nahm man mit 3 ml wäbr. Dioxan, dem 1 Tropfen Eisessig zugegeben wurde, auf und versetzte mit Natriumborant. Nach 1stündiger Reaktion gab man die Lösung auf Eis und arbeitete wie vorstehend beschrieben auf. Den Methylenchloridextrakt versetzte man mit Trifluoressigsäure bis zur 10proz. Lösung. Nach 2stündigem Rühren dampfte man die Lösung vorsichtig zur Trockne. Nach dünnstichtchromatographischer Reinigung an Kieselgel kristallisierten aus Aceton 28 mg (35%) **15**, das nach der allgemeinen Autoxidationsvorschrift zu **14** oxidiert wurde. Ausb. 75%, bezogen auf **15**.

Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur<sup>7)</sup>.

*Allgemeine Vorschrift zur Autoxidation*: Zu der Lösung der Desoxyverbindung in Dimethylformamid gab man eine Lösung von 2 Moläquiv. Kupfer(II)-chlorid · 2H<sub>2</sub>O und 2 Moläquiv. Spartein. Anschließend rührte man 10 min unter Sauerstoff-Atmosphäre. Die Reaktionslösung goß man auf salzsaures Wasser und extrahierte mit Methylenchlorid. Den Extrakt schüttelte man mit gesätt. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und gesätt. NaCl-Lösung, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte, evtl. im Ölpumpenvak., schonend ein. Der Rückstand wurde, evtl. nach chromatographischer Reinigung, kristallisiert.

*α*-Äthyl-12-chlor-11-hydroxy-8-methoxycarbonyl-9-oxo-9,11-dihydroindolizino[1,2-b]chinolin-7-essigsäure-isopropylester (**18**): 9.2 mg **18** erhielt man aus 12.3 mg **5** nach der allgemeinen Autoxidationsvorschrift. Ausb. 75%. Schmp. 191°C.

UV (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 362, 298, 261, 255, 222 nm (ε = 18250, 8510, 28700, 25800, 39300). — IR (KBr): C=O 1730, Pyridon 1660, 1615, Aromat 1560, 1500 cm<sup>-1</sup>. — NMR (CDCl<sub>3</sub>): Aromat-H τ 1.55–1.85 [2] m, 2.02–2.38 [2] m, Pyridon-H 2.64 [1] s, O–CH–N 2.97 [1] s breit, OH 4.28 [1] s breit, O–CH< 4.94 [1] q (J = 6 Hz), OCH<sub>3</sub> 6.03 [3] s, CH< 6.31 [1] tr (J = 7.5 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 7.65–8.25 [2] m, CH<sub>3</sub> 8.75 [3] d (J = 6 Hz), CH<sub>3</sub> 8.81 [3] d (J = 6 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 9.02 [3] tr (J = 7.5 Hz). — MS (280°C): M<sup>⊕</sup> 470 ME (100%), 411 (19), 396 (54), 381 (50), 351 (43), 337 (24).

C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub> Ber. 470.1245 Gef. 470.1226 (MS)

5-Äthyl-7-chlorcamptothecin (**20**): 9.4 mg **20** erhielt man nach der allgemeinen Autoxidationsvorschrift aus 10.7 mg **19**, dargestellt aus **6**, wie in l. c.<sup>3)</sup> für nicht alkylierte Verbindungen beschrieben. Ausb. 85%. Schmp. 240°C (Zers.).

UV (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 364, 342 (Schulter), 296, 256, 249, 224 nm (ε = 17450, 11960, 6740, 28430, 26210, 29100). — IR (KBr): C=O 1740, Pyridon 1660, 1615, Aromat 1560, 1500 cm<sup>-1</sup>. — NMR (CDCl<sub>3</sub>): Aromat-H τ 1.59–1.83 [2] m, 2.00–2.32 [2] m, Pyridon-H 2.38 [1] s, CH–N 3.90–4.13 [1] m, CH<sub>2</sub> 4.50 [2] AB-Quartett (J = 16 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 6.7–7.8 [2] m breit, CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 8.09 [2] q (J = 7.5 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 8.95 [3] tr (J = 7.5 Hz), CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> 9.64 [3] tr (J = 7.5 Hz). — MS (180°C): M<sup>⊕</sup> 410 ME (95%), 395 (100), 382 (78), 352 (45).

C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Ber. 410.1033 Gef. 410.1025 (MS)