

## Substitutionsreaktionen mit 5'-O-Arylsulfonyl-thymidinen<sup>1)</sup>

Von G. KOWOLLIK und P. LANGEN

### Inhaltsübersicht

Es werden Versuche zur Darstellung 5'-substituierter Thymidine aus 5'-O-Arylsulfonyl-thymidinen beschrieben. Während die Knüpfung neuer C—O- oder von C—S-Bindungen nach Austritt der Arylsulfonyloxy-Gruppe am C-5' prinzipiell möglich ist, wird bei Versuchen zur Knüpfung einer C—C-Bindung am C-5' mit Kaliumcyanid O<sup>2</sup>,5'-Cyclo-thymidin erhalten. Mit Ammoniak reagieren die 5'-O-Arylsulfonyl-thymidine über O<sup>2</sup>,5'-Cyclo-thymidin zu 1-(2'-Desoxyribofuranosyl)-5-methyl-isocytosin und 5-Methylisocytosin.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über Thymin-Antimetabolite waren wir an der Darstellung einiger C-5'-substituierter Thymidine<sup>2)</sup> interessiert. Als Ausgangsprodukte dienten uns p-Toluolsulfonyl-<sup>11)</sup> (I) und p-Brombenzol-sulfonyl-thymidin (II), die durch direkte spezifische 5'-O-Sulfonylierung von Thymidin<sup>3)</sup> zugänglich sind.

Toluolsulfonsäure-(Tosyl-) und Methansulfonsäure-(Mesy-)-ester von Kohlenhydraten finden seit langem vielfältige präparative Anwendung (Über-sichten<sup>4)</sup>). An der primären Hydroxylgruppe tosylierte Pyrimidin-Nucleo-side wurden zunächst zur Darstellung bestimmter reaktiver 5'-Desoxy-5'-halogen-Nucleoside verwendet<sup>5)</sup> 6). In neuerer Zeit sind sie auch mit einigen S- und N-Nucleophilen umgesetzt worden<sup>7-12)</sup>.

<sup>1)</sup> Auszugsweise vorgetragen auf dem von der Akademie der Wissenschaften der UdSSR veranstalteten Symposium über „Chemische Modifikation von Nucleinsäuren und ihren Komponenten“ in Moskau, 12.—17. Juni 1967.

<sup>2)</sup> Über die Bedeutung der Thyminverbindungen für die Synthese der DNA und für die Chemotherapie des Krebses auf Antimetabolit-Grundlage siehe P. LANGEN, Forsch. u. Fortschr. **33**, 4 (1964).

<sup>3)</sup> Im folgenden als TdR bezeichnet.

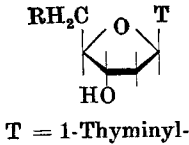
<sup>4)</sup> R. S. TIPSON, Adv. in Carbohydrate Chemistry **8**, 107 (1953); J. STANĚK, M. ČERNÝ, J. KOČOUREK u. J. PACÁK, The Monosaccharides, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1963, S. 186 ff.

<sup>5)</sup> P. A. LEVENE u. R. S. TIPSON, J. biol. Chem. **106**, 113 (1934).

<sup>6)</sup> A. M. MICHELSON u. A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1955**, 816.

<sup>7-12)</sup> s. S. 312.

Wir haben I und II ebenfalls mit verschiedenen Nucleophilen umgesetzt, wobei unter Austritt der 5'-Arylsulfonyloxy-Gruppe die gewünschten Verbindungen entstehen sollten.



	R
TdR	—OH
I	p-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub> O—
II	p-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub> O—
III	—OCOCH <sub>3</sub>
IV	—OCH <sub>3</sub>
V	—SCOCH <sub>3</sub>
VI	—SH
VII	—SCN
VIII	—CN
IX	—N <sub>3</sub>

### 1. Versuche zur Knüpfung einer neuen C—O-Bindung am C-5'

Es konnte erwartet werden, daß I mit Natriumacetat zu 5'-O-Acetyl-TdR (III) reagiert. Überraschenderweise entstehen jedoch beim Erhitzen der Komponenten in Dimethylformamid (DMF) unter Rückfluß neben III (45%) auch 3',5'-O-Diacetyl-TdR (23%), TdR (9%) und Thymin (8%). 3'-O-Acetyl-TdR tritt nicht auf. Die Substanzen können an einer Kieselsäure voneinander getrennt werden. Wir fanden, daß einheitliches III beim Erhitzen in DMF ebenfalls zunehmend in die genannten Verbindungen übergeht. Offensichtlich wirkt dabei ein Teil III auf weiteres III acetylierend ein und geht selbst in TdR und teilweise unter Glykosidspaltung in Thymin über. 3',5'-O-Diacetyl-TdR und TdR treten dagegen nicht auf, wenn I unter milderen Bedingungen (50 °C) mit Kaliumacetat umgesetzt wird. Nach 14 Stunden Reaktionszeit liegt III in etwa 75proz. Ausbeute vor. Ähnliche Ergebnisse werden mit I und Natriumpropionat erhalten.

Spezifisch 5'-O-methylierte Nucleoside sind nach den üblichen Methoden zur Darstellung von Kohlenhydratäthern nicht zugänglich<sup>13)</sup>. Wir gelangten

<sup>7)</sup> J. BADDILY u. G. A. JAMIESON, J. chem. Soc. [London] 1955, 1085.

<sup>8)</sup> D. M. BROWN, D. P. PARIHAR, A. TODD u. S. VARADARAJAN, J. chem. Soc. [London] 1958, 3028.

<sup>9)</sup> B. BANNISTER u. F. KAGAN, J. Amer. chem. Soc. 82, 3363 (1960).

<sup>10)</sup> J. P. HORWITZ, A. J. TOMSON, J. A. URBANSKI u. J. CHUA, J. org. Chemistry 27, 3045 (1962).

<sup>11)</sup> E. J. REIST, A. BENITEZ u. L. GOODMAN, J. org. Chemistry 29, 554 (1964).

<sup>12)</sup> E. BENZ, N. F. ELMORE u. L. GOODMAN, J. org. Chemistry 30, 3067 (1965).

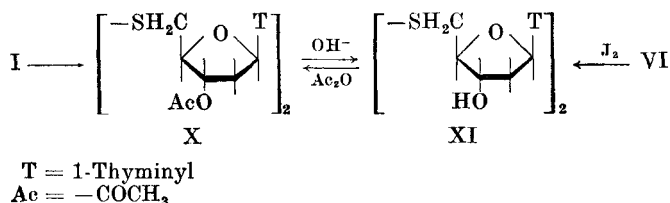
<sup>13)</sup> Es erfolgt bevorzugt oder ausschließlich N-Methylierung im Basenteil des Nucleosids.

durch nucleophile Substitution der Tosyloxy-Gruppe in I durch  $\text{OCH}_3$  zu 5'-O-Methyl-TdR (IV)<sup>14</sup>) und damit erstmalig zu einer Verbindung dieses Typs. Auch andere Alkoxygruppen lassen sich so in die 5'-Stellung einführen. Kürzlich berichteten ŽEMLIČKA und ŠORM<sup>15</sup>) über die Darstellung eines weiteren Nucleosid-5'-O-äthers (5'-O-tert.-Butyl-2',3'-O-isopropyliden-6-azauridin).

## 2. Versuche zur Knüpfung einer C-S-Bindung am C-5'

Die von uns untersuchten S-Nucleophilen (Thioacetat, Thiocyanat, Äthylmercaptid, Thioharnstoff) reagieren mit I oder II im allgemeinen nur mit mäßigen Ausbeuten und wenig einheitlich.

Bei der Reaktion von I mit Kaliumthioacetat in Aceton/Äthanol unter Stickstoff wird ein Substanzgemisch erhalten, aus dem bei Behandeln mit siedendem Wasser (in Gegenwart von Luftsauerstoff) das in farblosen Nadeln kristallisierende Bis-(3'-O-Acetylthymidinyl-5'-)disulfid (X) isoliert werden kann. X entsteht offenbar aus primär gebildetem (nicht isoliertem) 5'-Acetylmercapto-5'-desoxy-TdR (V) durch Acetylgruppenwanderung von C-5' nach C-3' mit nachfolgender Oxydation der dabei entstehenden 5'-Mercapto-Verbindung<sup>16</sup>)<sup>17</sup>).



Zur strukturellen Sicherung von X haben wir 5'-Desoxy-5'-mercapto-TdR<sup>11</sup>) (VI) mit wäßriger Jodlösung zu Bis-(Thymidinyl-5'-)disulfid (XI) oxydiert und dieses mit Acetanhydrid in Pyridin acetyliert. X erweist sich mit dem so erhaltenen Diacetyl-XI als identisch. Andererseits kann X zu XI verseift werden.

Mit Kaliumthiocyanat in DMF reagieren I und II zu 5'-Desoxy-5'-thiocyanato-TdR (VII). Die SCN-Gruppe ist im IR-Spektrum leicht durch die intensive charakteristische Bande bei  $2170 \text{ cm}^{-1}$  zu erkennen.

<sup>14</sup>) G. KOWOLLIK, K. GAERTNER u. P. LANGEN, *Angew. Chem.* **78**, 752 (1966); *Angew. Chem. internat. Edit.* **5**, 735 (1966).

<sup>15</sup>) J. ŽEMLIČKA u. F. ŠORM, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* **32**, 576 (1967).

<sup>16</sup>) Ein analoges Verhalten ist auch bei anderen Zuckerderivaten beobachtet worden: T. J. ADLEY u. L. N. OWEN, *J. chem. Soc. [London]* **1966**, 1287.

<sup>17</sup>) Bei vorheriger Acetylierung der 3'-Hydroxygruppe in I wird mit Kaliumthioacetat dagegen das beständige 3',5'-O, S-Diacetyl-5'-mercapto-5'-desoxy-TdR erhalten: siehe l. c. <sup>11</sup>).

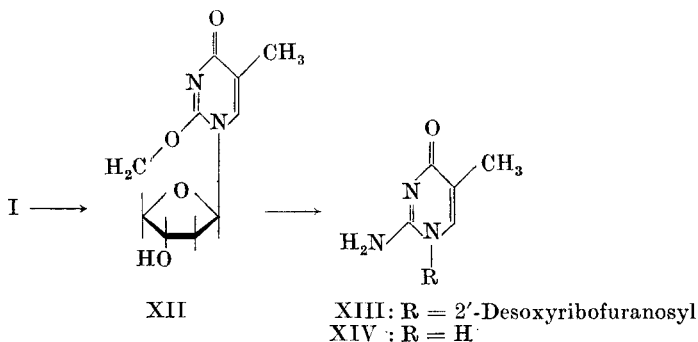
Beim Umsatz von I oder II mit Natriumäthylmercaptid oder mit Thioharnstoff konnten bisher keine definierten Produkte isoliert werden.

### 3. Reaktion mit Kaliumcyanid

In der Absicht, 5'-Cyano-5'-desoxy-TdR (VIII) darzustellen, haben wir I in verschiedenen Lösungsmitteln mit Kaliumcyanid umgesetzt. In jedem Falle entstand jedoch neben TdR und Thymin als Hauptprodukt O<sup>2</sup>,5'-Cyclo-TdR (XII) (bis zu 50% d. Th.). VIII konnte von uns inzwischen aus 5'-Desoxy-5'-jod-TdR erhalten werden<sup>18)</sup>.

### 4. Versuche zur Knüpfung einer C—N-Bindung am C-5'

In der Reihenfolge 3'-O-Acetyl-5'-O-mesyl-TdR = I < II < 5'-O-p-Nitrobenzolsulfonyl-TdR nehmen die Umsetzungsgeschwindigkeiten mit methanolischem Ammoniak bei Raumtemperatur zu. Dabei entsteht zunächst ausschließlich XII, das allmählich unter ammonolytischer Spaltung der O<sup>2</sup>,5'-Cyclo-Brücke am C-2 des Heterocyclus in 1-(2'-Desoxyribofuranosyl)-5-methyl-isocytosin (XIII) übergeht<sup>19)</sup>. Überraschenderweise wird außerdem 5-Methyl-isocytosin (XIV) gebildet<sup>20)</sup>. Ein 5'-substituiertes Nucleosid kann nicht nachgewiesen werden. Nach z. B. 14tägigem Stehen von I mit ammoniakgesättigtem Methanol bei Raumtemperatur sind XIII und XIV im Molverhältnis 1 : 10 entstanden. Beide Verbindungen werden nach Trennung an einer Kieselsäure rein erhalten.



<sup>18)</sup> G. ETZOLD, G. KOWOLLIK u. P. LANGEN, Chem. Commun. [London] 1968, im Druck.

<sup>19)</sup> Analoge Befunde erheben ŽEMLIČKA und ŠORM, l. c.<sup>15)</sup>, bei der Darstellung von 2',3'-O-Isopropyliden-6-aza-isocytidin aus 2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-mesyl-6-aza-uridin.

<sup>20)</sup> Bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang der Befund von D. M. BROWN, A. R. TODD u. S. VARADARAJAN (J. chem. Soc. [London] 1957, 868), wonach 5'-O-Tosyl-uridin nicht mit methanolischem Ammoniak reagiert.

Das UV-Spektrum von XIII ist dem von 1-Arabinosyl-5-methyl-isocytosin<sup>21)</sup> und dem von 1-Methylisocytosin<sup>22)</sup>, das UV-Spektrum von XIV ist dem von Isocytosin<sup>22)</sup> sehr ähnlich. Im Unterschied zu XIII weist das UV-Spektrum von XIV erhebliche Lageveränderungen der Maxima bei verschiedenen pH-Werten auf.

Mühelos läßt sich eine C—N-Bindung am C 5' durch Umsatz von I mit Lithiumazid<sup>10)</sup> oder mit Natriumazid in DMF erzielen, wobei 5'-Azido-5'-desoxy-TdR (XI) erhalten wird.

### Beschreibung der Versuche

Schmelzpunkte wurden auf dem Boëtius-Heiztisch bestimmt und sind korrigiert.

Dünnschichtchromatographie: Mit Kieselgel HF<sub>254</sub> (E. Merck A. G., Darmstadt), Schichtdicke 0,2 mm. Die Substanzen wurden im UV-Licht durch Fluoreszenzlösung lokalisiert.

Laufmittel: A = Chloroform/96proz. Äthanol (8:2); B = wie A (9:1); C = wie A (95:5); D = Isopropanol/Wasser (8:2). UV-Spektren wurden mit dem selbstregistrierenden Spektralphotometer Beckman DK-2, IR-Spektren in KBr mit einem Zeiss-UR-10-Gerät aufgenommen.

### 5'-O-p-Brombenzolsulfonyl-TdR (II)

1 g (4,14 mMol) TdR wird in 5 ml Pyridin gelöst und bei 0°C eine Lösung von 1,3 g (5,1 mMol) p-Brombenzolsulfonsäurechlorid in 5 ml Pyridin zugetropft. Man beläßt das Gemisch 16 Stunden bei 0°C und arbeitet analog I<sup>11)</sup> auf. Das Produkt wird aus Äthanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Ausbeute 0,81 g (= 42% d. Th.). Farblose Nadeln vom Schmp. 162–164°C (Zers.).

$C_{16}H_{17}BrN_2O_7S$  (461,3) ber.: C 41,70; H 3,72; N 6,07;  
gef.: C 41,41; H 3,57; N 6,22.

### 5'-O-p-Nitrobenzolsulfonyl-TdR

Analog II aus TdR und p-Nitrobenzolsulfonsäurechlorid. Große schwach gelbe Prismen vom Zers.-P. 159°C (Äthanol).

$C_{16}H_{17}N_3O_9S$  (427,4) ber.: C 44,98; H 4,01; N 9,84;  
gef.: C 45,18; H 4,30; N 10,14.

### Umsatz von I mit Natriumacetat

2 g (5 mMol) I werden mit 1,80 g (22 mMol) wasserfreiem Natriumacetat in 150 ml trockenem DMF 8 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Danach wird das DMF im Ölpumpenvakuum abdestilliert und mit absol. Äthanol nachdestilliert. Der Rückstand wird 5mal mit je 70 ml siedendem Äthylacetat extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden im Vakuum eingengt, wobei 1,78 g eines rotbraunen Öles erhalten werden. Nach dünnschichtchromato-

<sup>21)</sup> I. L. DOERR u. J. J. FOX, J. org. Chemistry **32**, 1462 (1967).

<sup>22)</sup> R. B. ANGIER u. W. V. CURRAN, J. org. Chemistry **26**, 1891 (1961).

graphischer Auftrennung (Laufmittel A) und Elution der Substanzen wird bei der quantitativen Bestimmung im UV (260 nm) folgende Zusammensetzung des Gemisches gefunden:

R <sub>f</sub> -Wert	Substanz	Mol.-% <sup>23)</sup>
0,63	3',5'-O-Diacetyl-TdR	23
0,50	5'-O-Tosyl-TdR (I)	13
0,42	5'-O-Acetyl-TdR (III)	44
0,32	Thymin	8
0,19	TdR	9

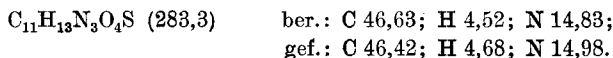
Das Gemisch wird an Kieselgel (0,2–0,5 mm; E. Merck, Darmstadt) adsorbiert und in zwei Portionen an 300 g Kieselgel in einer Dreistufensäule (Durchmesser 17, 25 und 40 mm, Stufenhöhe je 300 mm) mit Laufmittel A chromatographiert. Der Verlauf der Trennung wird dünnschichtchromatographisch verfolgt. Es werden erhalten: 0,32 g (= 19% d. Th.) 3',5'-O-Di-acetyl-TdR, Prismen vom Schmp. 126–126,5°C (Äthanol) [Lit.<sup>6)</sup>: 125°C]; 0,15 g I; 0,62 g (= 43% d. Th.) III, Nadeln vom Schmp. 147,5–148°C (Äthylacetat) [Lit.<sup>9)</sup>: 146°C; <sup>24)</sup>: 150°C]; 0,02 g Thymin und 0,11 g TdR. Alle Substanzen waren mit authentischen Präparaten in bezug auf Schmp., chromatographisches Verhalten und UV-Spektren identisch.

### Thermische Behandlung von III

3 mg III werden in 0,3 ml trockenem DMF 8 Stunden auf 150°C erhitzt. Es entstehen 21% 3',5'-O-Diacetyl-TdR, 7% Thymin und 8% TdR. Natriumtoluolsulfonat und Natriumacetat haben keinen Einfluß auf die Zusammensetzung des Produkts.

### 5'-Desoxy-thiocyanato-5'-TdR (VII)

2 g (5 mMol) I und 2 g (20,6 mMol) trockenes Kaliumthiocyanat werden in 50 ml DMF 6 Stunden auf 140°C erhitzt. Danach wird das DMF im Ölpumpenvakuum abdestilliert und der Rückstand 3mal mit je 30 ml Chloroform extrahiert. Die Extrakte werden vereinigt. Das Chloroform wird im Vakuum abdestilliert, wobei 0,90 g eines rotbraunen Öles erhalten werden. Dieses Öl wird an einer Säule mit 165 g Kieselgel (0,2–0,5 mm, E. Merck, Darmstadt) zuerst mit Laufmittel C, dann mit B chromatographiert. Ausbeute 0,33 g (= 23% d. Th.). Lange Prismen vom Schmp. 158–159,5°C (Aceton/Petroläther); UV-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  266 nm;  $\epsilon_{\max}$  9020;  $\lambda_{\min}$  234 nm;  $\epsilon_{\min}$  2800 (Wasser); IR-Bande: 2170 cm<sup>-1</sup> (–SCN).



Daneben werden 0,09 g einer nicht identifizierten Substanz isoliert, die nach Umkristallisieren aus 80proz. Äthanol unter Zusatz von Aktivkohle bei 143,5–144,5°C schmilzt.

Gef.: C 44,32; H 4,16.

<sup>23)</sup> Ebenso wie die folgenden Angaben unter der Annahme gleicher molarer Extinktionen bei 260 nm berechnet.

<sup>24)</sup> P. T. GILHAM u. H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. 80, 6212 (1958).

**5'-Azido-5'-desoxy-TdR (IX)**

4 g (10 mMol) I und 1,95 g (30 mMol) Natriumazid werden in 150 ml DMF unter Rühren 3 Stunden auf 120 °C erhitzt. Danach wird im Vakuum zur Trockene eingengt und der Rückstand mit Aceton extrahiert. Der Extrakt wird im Vakuum zur Trockene eingengt und mehrmals mit absol. Äthanol nachdestilliert. Der kristalline Rückstand wird aus Äthanol umkristallisiert und ergibt 1,47 g (= 95% d. Th.) farblose Nadeln vom Schmp. 165–166 °C [Lit.<sup>10</sup>] 165–166 °C]. IR-Bande: 2100 cm<sup>-1</sup> (–N<sub>3</sub>). 3'-O-Acetyl-IX: Farblose Nadeln vom Schmp. 117 °C (Aceton/Petroläther).

C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (309,3)      ber.: C 46,60; H 4,89; N 22,65;  
gef.: C 46,83; H 5,22; N 22,49.

**Bis-(3'-O-Acetylthymidinyl-5'-)disulfid (X)**

a) aus I:

0,40 g (1 mMol) I und 0,45 g (etwa 4 mMol) Kaliumthioacetat werden in 4 ml eines Gemisches aus Aceton/Äthanol (1:1) 5 Stunden unter Stickstoff bei Raumtemperatur gerührt. Man läßt über Nacht bei 0 °C stehen, trennt vom unlöslichen Bodensatz ab und engt die Lösung im Vakuum ein. Es werden 0,40 g eines gelblichen Öles erhalten, das in siedendem Wasser aufgenommen wird. Nach einigem Stehen kristallisiert X aus, das aus Äthanol oder Wasser umkristallisiert wird. Ausbeute 0,11 g (= 36% d. Th.). Farblose Nadeln vom Schmp. 222–224,5 °C; UV-Spektrum: λ<sub>max</sub> 265 nm; ε<sub>max</sub> 17000; λ<sub>min</sub> 233 nm; ε<sub>min</sub> 4380 (Methanol) IR-Bande: 1250 cm<sup>-1</sup> (–COCH<sub>3</sub>).

C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub> (598,6)      ber.: C 48,20; H 5,05; N 9,36; S 10,72;  
gef.: C 48,22; H 5,48; N 9,16; S 11,08.  
Mol.-Gew. 590 (Campher).

b) aus XI:

XI wird mit Acetanhydrid in Pyridin (8 Stunden bei Raumtemperatur) acetyliert und das Reaktionsgemisch in Wasser eingegossen. Das schwerlösliche Produkt (Ausbeute quantitativ) wird abgetrennt und aus Wasser umkristallisiert. Schmp. 223–225 °C. Keine Schmp.-Depression mit der nach a) hergestellten Substanz.

**Bis-(Thymidinyl-5'-)disulfid (XI)**

50 mg VI<sup>11</sup>) werden in wenig warmem Wasser gelöst. Die Lösung wird bis zur bleibenden schwachen Gelbfärbung tropfenweise mit etwa 0,1 n Jodlösung versetzt. Allmählich fällt ein farbloses Produkt aus, das nach einigem Stehen abgetrennt und aus Wasser umkristallisiert wird. Rohausbeute 47,6 mg (= 95% d. Th.). Schmp. 255–257 °C (Zers.); UV-Spektrum: λ<sub>max</sub> 265 nm (Äthanol).

C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> (514,6)      ber.: C 46,75; H 5,06; S 12,48;  
gef.: C 46,98; H 5,41; S 12,41.

**5-Methyl-isocytosin (XIV) und 1-(2'-Desoxyribofuranosyl)-5-methyl-isocytosin (XIII)**

4,0 g (10 mMol) I werden in 300 ml Methanol gelöst, das bei 0 °C mit Ammoniak gesättigt ist. Man läßt 14 Tage bei Raumtemperatur stehen und engt im Vakuum zur Trockene ein. Der Rückstand (4,5 g) wird an einer Kieselgelsäule mit Laufmittel D zum Substanzgemisch XIII und XIV vorgereinigt (2,61 g). Das Gemisch wird an zwei Säulen mit je 400 g

