

Zwei Isomere des Thymins¹

Von

W. Klötzer

Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie
der Universität Innsbruck, Österreich

(Eingegangen am 28. Juli 1972)

Two Isomers of Thyminine

The synthesis of two structural isomers **1** and **2** of thyminine (**3**) and some reactions of **1** are described.

Es wird die Synthese zweier Strukturisomere **1** und **2** des Thymins (**3**) und einige Reaktionen von **1** beschrieben.

Im Gegensatz zu den zahlreichen, hauptsächlich isosteren Abwandlungen^{2, 3} von Nucleinsäurebausteinen wurden die strukturisomeren Varianten⁴ wenig bearbeitet.

Das *exo*-Doppelbindungsisomere **1*** des Thymins ist nach drei verschiedenen Methoden zugänglich. Dehydrohalogenierung des β, β' -Dibromisobutyramids (**4**) ergibt das α -Brommethylacrylsäureamid (**5**), welches mit dem hochreaktiven** Trichloracetylisocyanat⁷ zum Diacylharnstoff **5 a** umgesetzt wird. Beim Erwärmen der wäßrig-alkoholischen Lösung des Na-Salzes von **5 a** tritt unter Abspaltung des Trichloracetylrestes Cyclisierung zu **1** ein.

Das Isothymin **1** kann auch einfacher, von **6** ausgehend, welches durch Umsetzung von α -Dimethylaminomethylacrylsäure⁸ mit Harnstoff zugänglich ist, erhalten werden.

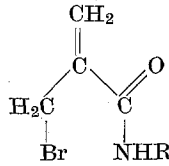
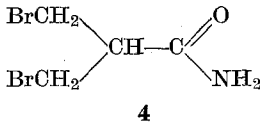
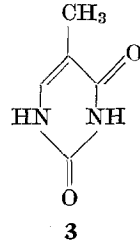
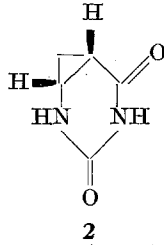
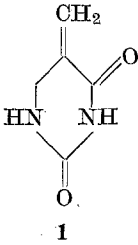
Da die thermische Eliminierung von Dimethylamin aus **6** erst bei 170—180° eintritt, wird die Verbindung in das Quartärsalz **6 a** übergeführt, das bereits im Reaktionsmedium Trimethylamin unter Bildung von **1** eliminiert.

In ähnlicher Weise gelingt es auch nicht, das entsprechende N-Oxid **6 b** zu isolieren, da es beim Versuch der Reinigung ebenfalls spontan **1** ergibt.

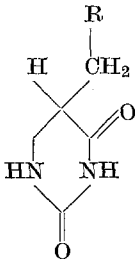
* Ein N-3-Alkylderivat von **1** wurde als hypothet. Zwischenprodukt postuliert⁵.

** Triacylribofuransylisocyanate⁶ sind lt. eigenem Befund für die Bildung eines analogen Diacylharnstoffs zu wenig reaktiv.

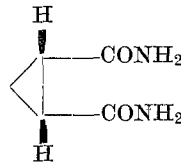
Formelübersicht



5 : R = H

5a: R = $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CCl}_3$ 6 : R = N(CH₃)₂6a: R = $\overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3$ (als Tosylat)^a6b: R = $\overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_2$ ^a

6c: R =

6d: R = SO₃Na^a Nicht rein isoliert.

7

Die Reaktionsfähigkeit der *exo*-Doppelbindung in 1 zeigt sich bei diversen Additionsreaktionen zu 6, 6 c und 6 d, weiters bei der qualitativ festgestellten, raschen Addition von Thiolverbindungen*.

* Thioglycolsäure bzw. Cystein in H₂O bei pH 9,2 (Boratpuffer).

Die Umlagerung von **1** in das stabilere Thymin (**3**) tritt langsam beim Lagern im festen Zustand ein. Bei der versuchten katalyt. Hydrierung* von **1** hingegen beobachtet man zwar rasche Isomerisierung zu Thymin (**3**), aber ohne Bildung von 5,6-Dihydrothymin.

Das rac. 5,6-cycloisomere Thymin **2**, dessen 5,6- β -Ribosid kürzlich nach einem prinzipiell anderen Verfahren⁴ dargestellt wurde, wird hier durch einen cyclisierenden Säureamidabbau des *cis*-Cyclopropancarbon-säurediamids **7** erhalten.

Den Firmen Hoffmann-La Roche, Wien und Basel, sei für die Unterstützung dieser Arbeit verbindlichst gedankt.

Experimenteller Teil

Für die Ermittlung der physikalischen Daten wurden folgende Geräte verwendet: Kofler-Heizmikroskop, Perkin-Elmer Infracord IR-Spektrophotometer, Perkin-Elmer UV-Spektrophotometer Modell 137 und Jeol C-60 HL NMR-Spektrophotometer.

β, β' -Dibromisobutyramid (**4**)

41 g β, β' -Dibromisobuttersäure⁹ werden in 200 ml Benzol mit 38 g PCl_5 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Der Eindampfrest wird mit 300 ml Petroläther (*PÄ*; Sdp. 60—80°) digeriert und filtriert. In das Filtrat wird bei 20° unter Rühren 1 Stde. NH_3 eingeleitet, die Fällung isoliert und mit 50 ml H_2O gewaschen. 25 g **4**, Schmp. 138—139° (aus H_2O).

IR (KBr): λ_{max} 1680, 1610 cm^{-1} .

$\text{C}_4\text{H}_7\text{Br}_2\text{NO}$. Ber. C 19,61, H 2,88, N 5,72.
Gef. C 19,53, H 2,74, N 5,70.

α -Brommethyl-acrylamid (**5**)

24,5 g **4** werden mit einer Mischung von 80 ml absol. Dioxan, 14 ml Diisopropyläthylamin und 0,1 g Hydrochinon unter N_2 9 Stdn. am sied. Wasserbad erwärmt. Der Vakuum eindampfrest wird mit 20 ml Eiswasser versetzt, mit einigen Tropfen 2*n*-HCl angesäuert und mit Essigester extrahiert. Der Vakuum eindampfrest der Essigesterphase kristallisiert beim Anreiben mit *PÄ*: 12,5 g **5**, Schmp. 129—130° (aus H_2O).

IR (KBr): λ_{max} 1670, 1615 cm^{-1} .

NMR (CDCl_3): δ = 4,12 (s, 2 H, CH_2Br), 5,70, 5,83 (2 s, 2 H, = CH_2).
 $\text{C}_4\text{H}_6\text{BrNO}$. Ber. C 29,29, H 3,68, N 8,54.
Gef. C 29,58, H 3,60, N 8,71.

N-Trichloracetyl-*N'*- α -brommethyl-acryl-harnstoff (**5 a**)

8,0 g **5** in 100 ml absol. Benzol werden mit 9,2 g Trichloracetylisocyanat⁷ 90 Min. unter Rückfluß erhitzt. Die filtrierte Benzollösung wird auf 50 ml

* Normaldruck, 20°, 5proz. Pd/Kohle in 50proz. Alkohol, 3 Stdn.

eingengt und mit Petroläther (Sdp. 40—60°) verdünnt. 15,5 g **5 a**, Schmp. 153—155° (aus Benzol/Petroläther).

IR (KBr): λ_{\max} 1785, 1670 cm^{-1} .

$\text{C}_7\text{H}_6\text{BrCl}_3\text{N}_2\text{O}_3$. Ber. N 7,95. Gef. N 8,05.

5-Methylenhexahydropyrimidin-2,4-dion (**1**)

Eine Lösung von 7,2 g NaHCO_3 in 60 ml H_2O wird bei 20° unter Rühren mit 12,5 g **5 a** versetzt, nach Verdünnen mit 110 ml Alkohol innerhalb 4 Min. auf 55° erwärmt, 2 Min. bei dieser Innentemp. gehalten und nach Filtration 60 Min. bei 20° belassen. Das nach dem Einengen (im Vak. bei 30°) auf ca. 25 ml erhaltene Kristallinat wird bei 0° in *n*-NaOH eben gelöst und nach der Filtration mit Eisessig wieder ausgefällt. Die Fällung (1,3 g) wird in 15 ml heißem H_2O gelöst, die Lösung mit 40 ml Alkohol versetzt und auf 0° gekühlt. 1,15 g **1** (26% d. Th.), Schmp. (Zers.) 210—215°* (mit teilweiser Umwandlung in Thymin).

IR (KBr): λ_{\max} 3225, 3080; 1760, 1690, 1635 cm^{-1} .

UV (H_2O): λ_{\max} 208 nm ($\epsilon = 10\,460$)**.

NMR (*DMSO*): $\delta = 3,87$ (s, 2 H, CH_2); 5,53, 5,96 (2 s, 2 H, = CH_2); 7,40, 10,0 (2 s, 2 H, 2 NH).

$\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$. Ber. C 47,62, H 4,80, N 22,22.

Gef. C 47,87, H 4,72, N 22,55.

5-Dimethylaminomethylhexahydropyrimidin-2,4-dion (**6**)

12 g Harnstoff werden innerhalb von 15 Min. unter Rühren in 24 ml konz. H_2SO_4 eingetragen (Innentemp. 0—5°). Nach Zugabe von 16,5 g α -Dimethylaminomethylacrylsäure \cdot HCl (H_2O -frei)⁸ wird der Ansatz 3 Stdn. bei 20° gerührt (H_2O -Ausschluß), dann innerhalb 20 Min. auf 130—140° (Badtemp.) erhitzt und im Vak. (200 Torr) 7 Stdn. bei dieser Temp. belassen. Nach dem Erkalten wird in 150 ml Eiswasser gelöst, mit NaHCO_3 pH 7—8 eingestellt und bei 50° im Vak. eingedampft. Nach dem gründlichen Trocknen des gepulverten Eindampfrestes im Exsiccator wird dieser 12 Stdn. mit 200 ml CHCl_3 im Soxhlet extrahiert. Nach dem Abkühlen des Extraktes (150 ml) auf 0° wird filtriert. 8,8 g rohes **6** wird aus 50 ml 80proz. Alkohol umgelöst. 6,8 g **6** (40% d. Th.); Schmp. (Zers.) 181°.

IR (KBr): λ_{\max} 1760, 1720 cm^{-1} .

NMR (D_2O): $\delta = 2,25$ [s, 6 H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$]; 2,68 (s, 2 H, CH_2 -*exo*); 3,09, 3,31, 3,44, 3,66 (*AB*, 2 H, CH_2 -Ring).

$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$. Ber. C 49,11, H 7,65, N 24,55.

Gef. C 49,25, H 7,78, N 24,68.

Das in H_2O leicht lösliche, in Alkohol unlösliche HCl-Salz von **6** schmilzt bei 222—225° (u. Zers.).

1 aus **6** (Quartärsalzbau)

6,8 g **6**, suspendiert in 60 ml Acetonitril, werden mit 8,4 g *p*-Toluolsulfonsäuremethylester 135 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach 2stdg.

* Unter Paraffinöl gut reproduzierbar.

** Frisch umgelöst. Nach 3 1/2 monatl. Lagerung im Glasgefäß bei 20°: λ_{\max} 208 nm und 265 nm. Ein Gemisch aus 20% Thymin und 80% **1** zeigt eine fast identische Absorptionskurve. Beim Lagern im Kühlschrank (2—4°) war nach dieser Zeit keine Veränderung festzustellen.

Kühlen auf 0° wird filtriert und der Rückstand (7,2 g) aus 40 ml H₂O umgelöst. Man erhält so 2,8 g **1**, welches mit dem oben erhaltenen identisch ist.

1 aus **6** (*N*-Oxidabbau)

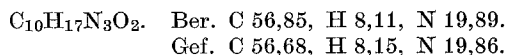
Eine Suspension von 4,3 g **6** in 50 ml CHCl₃ wird unter Rühren mit einer Lösung von 6,5 g 77proz. *m*-Chlorperbenzoesäure in 30 ml CHCl₃ innerhalb 10 Min. versetzt. Nach 20stdg. Rühren bei 20° wird filtriert und mit 15 ml Aceton und viel Äther gewaschen. Der Rückstand wird mit 20 ml H₂O auf 80° (Innentemp.) erhitzt, die Lösung 3 Min. bei dieser Temp. gehalten, dann gekühlt und filtriert*. 1,05 g **1**, identisch mit obigem.

Rückverwandlung von 1 in 6

126 mg **1**, suspendiert in 2 ml H₂O, werden mit 0,11 ml einer 40proz. wäbr. Dimethylaminlösung versetzt, die Lösung 15 Min. bei 20° belassen, dann mit 2*n*-HCl eben angesäuert und auf 1 ml eingedampft. Durch Versetzen mit 10 ml Alkohol erhält man 130 mg HCl-Salz von **6**.

5-Piperidinomethylhexahydropyrimidin-2,4-dion (6 c)

2,52 g **1** in 55 ml 85proz. Alkohol werden bei 60° mit 1,72 g Piperidin in 15 ml Alkohol versetzt, die Lösung noch warm filtriert und auf 0° gekühlt. 3,7 g **6 c**, Schmp. 215° (aus Alkohol).

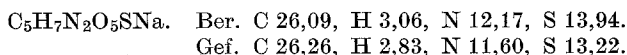


2,4-Dioxohexahydro-5-pyrimidinylmethansulfonsaures Natrium (6 d)

1,26 g **1** und 1,7 g NaHSO₃ werden in 60 ml H₂O kurz auf 40° erwärmt, die Lösung 2 Stdn. bei 20° belassen und dann im Vak. bei 30° auf 5 ml eingeeengt. Beim Kühlen auf 0° erhält man 1,15 g **6 d**, Schmp. (Zers.) 253—255° (aus H₂O).

IR (KBr): λ_{max} 1700, 1685, 1175, 1040 cm⁻¹.

UV (H₂O): λ_{max} 196 nm ($\epsilon = 12\,300$). Die Verbindung enthält 8,86% Kristallwasser, die Analysenwerte sind auf die wasserfreie Verbindung umgerechnet.



Thymin und 6 d aus gealtertem 1

2,1 g **1** (3½ Monate gelagert) werden, wie oben angegeben, mit 2,5 g NaHSO₃ in 80 ml H₂O behandelt. Nach 2 Stdn. wird filtriert und der unlösliche Rückstand (700 mg) aus 1*n*-NaOH/HCl umgefällt. Man erhält so 0,4 g Thymin**. Das Filtrat wird, wie angegeben, auf **6 d** aufgearbeitet (Ausb. 1,5 g).

* Die wäbr. Mutterlauge zeigt positiven *Snow*-test¹⁰ auf Dimethylhydroxylamin. Der Abbau tritt somit beim Erhitzen des *N*-Oxides **6 b** in H₂O ein.

** In einer Parallelprobe reagierte Thymin nicht mit NaHSO₃, vgl.¹¹.

cis-1,2-Cyclopropandicarbonsäurediamid (7)

51 g *cis*-1,2-Cyclopropandicarbonsäurediäthylester* werden mit 400 ml konz. NH₃ unter anfänglichem Einleiten (2 Stdn.) von NH₃-Gas 100 Stdn. gerührt. Durch Filtration erhält man 15 g 7. Das Filtrat wird mit Äther extrahiert und die wäbr. Phase bei 50° im Vak. zur Trockne eingedampft. Durch Digerieren des Rückstandes mit Alkohol und Filtrieren erhält man weitere 5,5 g 7. Schmp. 242—244° (aus H₂O).

IR (Nujol): λ_{\max} 3340, 3180, 1670, 1630 cm⁻¹.

NMR (DMSO): δ = 0,8—1,5 (m, 2 H, CH₂); 1,6—2,0 (m, 2 H); 6,90, 7,45 (2 s, 4 H, 2 CONH₂).

C₅H₈N₂O₂. Ber. C 46,87, H 6,29, N 21,87.

Gef. C 46,84, H 6,10, N 21,70.

 (\pm) 2,4-Diazabicyclo[4.1.0]heptan-3,5-dion („Cyclothymin“) (2)

Aus 20 g NaOH in 280 ml Eiswasser wird durch Einleiten von 14,2 g Chlor eine NaOCl-Lösung bereitet. 175 ml dieser Lösung werden bei 0° unter Rühren mit 14,5 g gepulvertem 7 versetzt, wobei nach 10 Min. Lösung eintritt. Darauf wird noch 2 Stdn. bei 0° und 18 Stdn. bei 20° belassen und die langsam eintretende Kristallisation durch Einleiten von CO₂ vermehrt. Man erhält so 3,9 g 2, Schmp. (Zers.) 270—276° (ab 260° Dunkel-färbung; aus H₂O).

IR (KBr): λ_{\max} 3220, 3050, 1690 (breit) cm⁻¹.

UV (H₂O): λ_{\max} 196 nm (ϵ = 9072), sh 245 (ϵ = 0,8 · 10³).

NMR (DMSO): δ = 0,6—0,95 und 1,0—1,55 (2 m, 2 H, CH₂); 1,55—2,05 (m, 1 H, >CH—C=O); 2,8—3,25 (m, 1 H, —CH—N<) 8,02, 9,85 (2 s, 2 H, 2 NH).

C₅H₆N₂O₂. Ber. C 47,62, H 4,80, N 22,22.

Gef. C 47,62, H 4,96, N 22,15.

Literatur

- ¹ Vgl. letzte Mitt. auf diesem Gebiet: *W. Klötzer*, *Mh. Chem.* **99**, 847 (1968).
- ² *P. Langen*, *Antimetabolite des Nucleinsäurestoffwechsels*. Berlin: Akademie-Verlag, 1968.
- ³ *G. M. Timmis* und *D. C. Williams*, *Chemotherapy of Cancer, The Antimetabolite Approach*. London: Butterworth's, 1967.
- ⁴ *T. K. Kameda* und *B. Witkop*, *J. Amer. Chem. Soc.* **93**, 3478 (1971); *P. F. Torrence* und *B. Witkop*, *Biochem.* **11**, 1737 (1972).
- ⁵ *D. V. Santi* und *A. L. Pogolatti*, *J. Heterocycl. Chem.* **8**, 265 (1971).
- ⁶ *Ch. Ukita*, *A. Hamada* und *M. Yoshida*, *Chem. Pharm. Bull.* [Tokyo] **12**, 454 (1964).
- ⁷ *A. J. Speziale* und *L. R. Smith*, *J. Org. Chem.* **28**, 1805 (1963).
- ⁸ *S. W. Pelletier* und *J. E. Franz*, *J. Org. Chem.* **17**, 855 (1952).
- ⁹ *A. F. Ferris*, *J. Org. Chem.* **20**, 780 (1955).
- ¹⁰ *G. A. Snow*, *J. Chem. Soc.* [London] **1954**, 2588.
- ¹¹ *R. Shapiro*, *R. E. Servis* und *M. Welcher*, *J. Amer. Chem. Soc.* **92**, 422 (1970).
- ¹² *F. Fichter* und *H. Spiegelberg*, *Helv. Chim. Acta* **12**, 1162 (1929).

* Alkoholyse des Cyclopropandicarbonsäureanhydrids, vgl. ¹².