

Fakultät für Biowissenschaften der Universität Leipzig¹, Fachbereich Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg²

Synthese von Sulfanylalkylpyrimidin-Derivaten mit potenziell immunmodulierender Wirkung

D. BRIEL¹, M. HOLZER², S. LEISTNER¹, K. DRÖßLER¹, B. DOBNER²

Eingegangen am 7. April, angenommen am 15. Mai 2003

PD Dr. Detlev Briel, Institut für Pharmazie, Pharmazeutische Chemie, Brüderstr. 34, D-04103 Leipzig
briel@rz.uni-leipzig.de

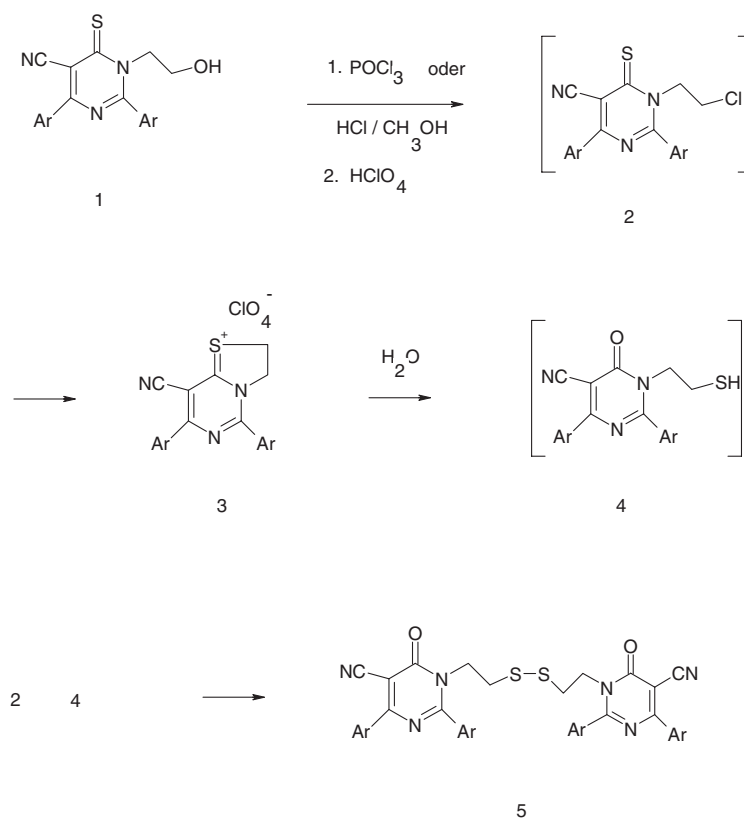
Pharmazie 58: 759–760 (2003)

Das ursprünglich als Anthelminthikum entwickelte Levamisol wird als Immunmodulator eingesetzt [1–4]. Von besonderer Bedeutung ist hierbei die Anwendung in Kombination mit 5-Fluorouracil zur adjuvanten Therapie bei Kolonkarzinom [1, 5, 6]. An der Beeinflussung der zellu-

lären Immunantwort, die über eine Beeinflussung von T-Lymphozyten und Makrophagen zustande kommt, hat vermutlich neben dem Levamisol auch dessen Hydrolyseprodukt, ein N-sulfanylethyl substituiertes Imidazolidinon, einen Anteil [1, 2]. Weiterhin berichten Nuss et al. über Diphenylpyrimidin-5-carbonitrile mit immunstimulierender Wirkung [7].

Die von uns in einer früheren Mitteilung [8] beschriebenen Diarylpyrimidin-5-carbonitrile **1** wurden als Ausgangsverbindungen zur Synthese potenziell immunmodulierender Verbindungen genutzt. Durch Austausch der Hydroxylgruppe in der Seitenkette gegen eine Thiofunktion sollten Levamisol-Analoga erhalten werden können. Die Umsetzung von **1** mit POCl₃ liefert die Thiazolopyrimidinium-Salze **3** (Schema). Die hierbei vermutlich zwischenzeitlich gebildeten N-Chlorethyl-pyrimidine **2** konnten nicht isoliert werden. Zum gleichen Reaktionsergebnis gelangt man durch Einwirkung von HCl auf **1** in wasserfreiem Methanol. Die Salze **3** fallen zunächst als schmierige Hydrochloride an. Durch Lösen in Eisessig werden nach Zugabe von Perchlorsäure die Perchlorate erhalten. Stehen an der Luft oder Versetzen der Lösungen mit Wasser führt rasch zur Hydrolyse dieser Salze. Als Produkte werden die Disulfane **5** erhalten.

Schema



1-5	Ar
a	C ₆ H ₅
b	C ₆ H ₄ -CH ₃

Tabelle: Beeinflussung der zellulären und humoralen Immunreaktion durch das Thiazolopyrimidiniumsalz **3a und die Disulfane **5a,b****

Verbindung	Zelluläre Immunreaktion ^b		Humorale Immunreaktion ^c	
	24 h Reaktion	48 h Reaktion	AK-Titer	AK-Titer-Differenz
3a	5,0 (±1,2)	3,5 (±0,6)	1,5 (±0,5)	+0,4
5a	8,0 (±0,8)	5,3 (±1,3)	0,5 (±0,5)	−0,6
5b	5,8 (±2,0)	4,1 (±1,6)	1,7 (±0,5)	+0,6
Kontrolle	7,8 (±0,6)	5,5 (±0,4)	1,1 (±0,4)	

^a als Hydrochlorid

^b Hautreaktionen nach epikutaner Applikation einer DNFB(Dinitrofluorbenzol)-Lösung (0,5–0,01%) am Meerschwein. Perorale Applikation der Testverbindung (Dosis 1×10^{-5} mol/kg) (Methode: [9, 10]) Kontrolle: Lactose.

^c Serumantikörperkonzentration (AK-Titer) und Differenz gegenüber einer Kontrollgruppe (AK-Titer-Differenz) 14 Tage nach primärer epikutaner Applikation von DNFB (Methode nach Takatsy [11]).

Die Prüfung der Verbindungen auf immunmodulierende Eigenschaften wurde mit den Screeningmodellen Kontaktüberempfindlichkeit vom verzögerten Typ (Effektor-T-Lymphozytenaktivität) (zelluläre Immunantwort) [9, 10] und Takatsy-Test zum Nachweis Trinitrophenol-spezifischer Antikörper (humorale Immunantwort) [9–12] durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass das Thiazolopyrimidinium-Salz **3a** die zelluläre Immunantwort signifikant supprimiert. Dagegen konnte für die Disulfane **5a,b** kein signifikanter Effekt bezüglich der zellulären- und humoralen Immunreaktion nachgewiesen werden (Tabelle). Dies ist bemerkenswert, da unter Testbedingungen eine vollständige oder teilweise Umwandlung von Thiazolopyrimidinium-Salz in das Disulfan wahrscheinlich ist. Aus diesem Grund sollten analoge Verbindungen, die eine freie oder eine geschützte Thiolgruppe aufweisen, für weitere Untersuchungen von Interesse sein [13].

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Angaben und Geräte

Schmelzpunkte (unkorrigiert): Heitzischmikroskop nach Boetius. IR-Spektren: IR-Spektrophotometer 16PC FT-IR Perkin-Elmer. UV/Vis-Spektren: Shimadzu UV160A. Massenspektren: Hewlett Packard 5989A (70eV). Die Ergebnisse der Elementaranalysen entsprachen innerhalb der üblichen Grenzen den theoretischen Werten.

2. 5,7-Diaryl-8-cyan-2,3-dihydro-4H-thiazolo[3,2-c]pyrimidin-1-ium-perchlorat **3a,b**

A) **1** [8] (3 mmol) wird in 5 ml POCl₃ 2 h rückfließend erhitzt. Der Ansatz wird unter vermindertem Druck eingeeengt. Der nach dem Erkalten ausfallende schmierige Niederschlag wird abgesaugt und mit abs. C₂H₅OC₂H₅ gewaschen. Anschließend wird in 2 ml abs. CH₃COOH gelöst. Man gibt unter Rühren einige Tropfen HClO₄ (70%) hinzu, saugt den kristallinen Niederschlag ab, wäscht mit wenig abs. CH₃COOH und anschließend mit abs. C₂H₅OC₂H₅.

B) **1** [8] (3 mmol) werden in abs. CH₃OH suspendiert. Nach 1,5 h Begasung mit getrocknetem HCl wird die Lösung unter vermindertem Druck zu sirupartiger Konsistenz eingeeengt und mit einigen Tropfen CH₃COCH₃ versetzt und angerieben. Der Kristallkuchen wird abgesaugt und mit abs. C₂H₅OC₂H₅ gewaschen. Anschließend werden analog zu Methode A die Perchlorate durch Lösen in abs. CH₃COOH, Füllen mit HClO₄ und anschließendes Waschen dargestellt.

2.1. 5,7-Diphenyl-8-cyan-2,3-dihydro-4H-thiazolo[3,2-c]pyrimidin-1-ium-perchlorat (**3a**)

Ausbeute: A: 1,1 g (88%). B: 1,0 g (80%). hellgelbe Kristalle vom Schmp. 267–270 °C (CH₃NO₂/C₂H₅OC₂H₅). MS (E.–I.) m/z (rel. Int. %): 316 M⁺, 60, 302 (5), 289 (M⁺-HCN, 100), 256 (10), 153 (22); 127 (16). IR (KBr, cm⁻¹): 2250 (C≡N), 1565, 1100, 625. UV/Vis (C₂H₅OH, nm): λ_{max} (log ε) = 248 (4,15), 292 (3,94), 330 (3,90). C₁₉H₁₄ClN₃O₄S (415,8). Für die Testung wurde ein nach Methode B erhaltenes, mehrfach mit CH₃COCH₃/C₂H₅OC₂H₅ verriebenes und mit C₂H₅OC₂H₅ gewaschenes Rohprodukt (Hydrochlorid) eingesetzt.

2.2. 5,7-Bis(4-methylphenyl)-8-cyan-2,3-dihydro-4H-thiazolo[3,2-c]pyrimidin-1-iumperchlorat (**3b**)

Ausbeute: A: 1,2 g (90%). B: 1,1 g (83%). hellgelbe Kristalle vom Schmp. 227–229 °C (CH₃NO₂/C₂H₅OC₂H₅). MS (E.–I.) m/z (rel. Int. %): 344 M⁺, 51, 317 (M⁺-HCN, 100). IR (KBr, cm⁻¹): 2250 (C≡N), 1567, 1100, 630. UV/Vis (C₂H₅OH, nm): λ_{max} (log ε) = 255 (4,26), 301 (4,07), 339 (3,99). C₂₁H₁₈ClN₃O₄S (443,9)

3. 2',2''-Dithiobis(2,4-diaryl-1,6-dihydro-6-oxo-5-cyan-pyrimidin-1-ethylen) **5a,b**

3 (1 mmol) wird in 10 ml CH₃CN suspendiert und nach Zugabe von 1,5 mmol CH₃COONa und 2 mmol H₂O 1 h bei RT gerührt. Der Niederschlag wird abgesaugt.

3.1. 2',2''-Dithiobis(2,4-diphenyl-1,6-dihydro-6-oxo-5-cyan-pyrimidin-1-ethylen) **5a**

Ausbeute: 0,19 g (57%). farblose Kristalle vom Schmp. 186–188 °C (CH₃CN). MS (E.–I.) m/z (rel. Int. %): 332 (M⁺/2, 50), 314 (8), 256 (10), 229 (12), 105 (C₆H₅CO⁺, 100). IR (KBr, cm⁻¹): 2200 (C≡N), 1705 (C=O), 1610, 630. UV/Vis (C₂H₅OH, nm): λ_{max} (log ε) = 250 (4,48), 312 (4,43). C₃₈H₂₈N₆O₂S₂ (664,8)

3.2. 2',2''-Dithiobis[2,4-bis(4-methylphenyl)-1,6-dihydro-6-oxo-5-cyan-pyrimidin-1-ethylen] **5b**

Ausbeute: 0,22 g (61%). farblose Kristalle vom Schmp. 185–189 °C (CH₃CN). MS (E.–I.) m/z (rel. Int. %): 360 (M⁺/2, 45), 342 (50), 301 (30), 273 (25), 119 (CH₃C₆H₄CO⁺, 100). IR (KBr, cm⁻¹): 2220 (C≡N), 1700 (C=O), 1680, 1610. UV/Vis (C₂H₅OH, nm): λ_{max} (log ε) = 255 (4,45), 310 (4,54). C₄₂H₃₆N₆O₂S₂ (720,9)

Literatur

- Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Schäfer-Korting, M.; Arzneimittelwirkungen – Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 8. Aufl., S. 930, Wiss. Verl. Ges.m.b.H, Stuttgart 2001
- Roth, H. J.; Fenner, H.: Arzneistoffe – Struktur, Bioreaktivität, wirkungsbezogene Eigenschaften, 3. Aufl., S. 612, Dt. Apotheker Verlag, Stuttgart 2000
- Aksoy, H.; Baltaci, S.; Turkolmez, K.; Seckinger, I.; Beduk, Y.: Int. Urol. Nephrol. **33**, 457 (2001); ref.: C. A. **137**, 293329m (2002)
- Kaytas, M.: Artificial Organs 492 (2002); ref.: C. A. **137**, 103450y (2002)
- Holen, K.; Saltz, L. B.: Colorectal Cancer 585 (2002); ref.: C. A. **137**, 163160p (2002)
- Huang, R. C. C.; Heller, J. D.; Chang, C.-C.: U. S. Pat. Appl. Publ. US 2002 65,310; ref.: C. A. **137**, 699g (2002)
- Nuss, J. M.; Harrison, S. D.; Ring, D. B.; Boyce, R. S.; Johnson, K.; Pfister, K. B.; Ramurthy, S.; Seely, L.; Wagman, A. S.; Desai, M.; Levine, B. H.: PCT Int. Appl. WO 02 20,495 (14. März 2002); ref.: C. A. **136**, 247598e (2002)
- Holzer, M.; Dobner, B.; Briel, D.: Liebig's Ann. Chem. 895 (1994)
- Briel, D.; Leistner, S.; Dröbler, K.: Arch. Pharm. **324**, 959 (1991)
- Holzer, M.: Diplomarbeit, Leipzig 1992
- Takatsy, G.: Kiserletes Orvostudomány **2**, 263 (1950)
- Rittenberg, M. B.; Pratt, K. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **132**, 575 (1969)
- Briel, D.; Dobner, B.; Holzer, M.; Leistner, S.; und Dröbler, K.: Pharmazie, Veröff. in Vorb.