

METHYL-DERIVATE DES 4-THIOURIDINS

K. H. SCHEIT

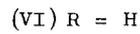
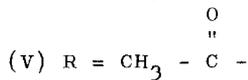
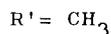
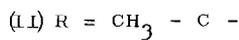
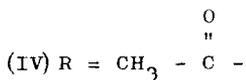
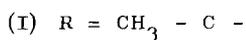
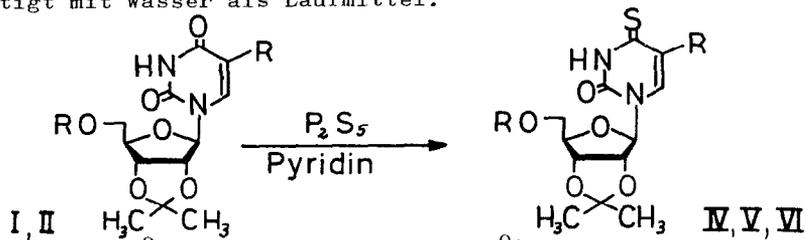
Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin
Chemische Abteilung, Göttingen

(Received 4 November 1966)

t-RNA aus *Escherichia coli* enthält ein Molekül 4-Thiouridinphosphat auf 140 Nucleotide neben geringen Mengen anderer Thio-Nucleotide ¹⁾. Für die Funktion dieser Thio-Nucleotide hat man noch keine Hinweise gefunden. Wir haben die 4-Thio-Analogen einiger Uridin- und 5-Methyluridin-Derivate ²⁾ dargestellt, da uns die NMR- und UV-Spektren dieser Verbindungen interessierten. Außerdem untersuchten wir die Methylierung des 4-Thiouridins durch Diazomethan.

Für die Synthese der 4-Thionucleoside aus den entsprechenden Uridin-Derivaten: 5'-O-Acetyl-2',3'-O-isopropylidenuridin (I) und 5'-O-Acetyl-2',3'-O-isopropyliden-5-methyluridin (II) ²⁾ benutzten wir die Methode von J. J. FOX et al. ³⁾. Die Ausbeuten der im Folgenden beschriebenen Verbindungen waren im Allgemeinen zufriedenstellend; die Isolierung und Reinigung der Substanzen erfolgte durch Säulenchromatographie und präparative Dünnschichtchromatographie an Silicagel mit den Lösungsmitteln Chloroform oder Chloroform/Methanol = 97/3 (v/v). Für

die Reinigung von 4-Thiouridin verwendeten wir n-Butanol, gesättigt mit Wasser als Laufmittel.



4-Thiouridin (III) ⁺ : C₁₀H₁₄O₅N₂S MG 260.27; Fp 139 - 40° C
(aus Äthanol); UV (Wasser, pH 7) λ_{max} 330 mμ (ε 2.06 · 10⁴),
243 mμ (ε 3.4 · 10³), λ_{min} 274 mμ, 225 mμ.

5'-O-Acetyl-2',3'-O-isopropyliden-4-thiouridin (IV):

C₁₄H₁₈O₆N₂S MG 342.38; Fp 143-144° C (Äthanol); UV (Methanol)
λ_{max} 329 mμ (ε 19.6 · 10³), 247 mμ (ε 4.45 · 10³), λ_{min} 275 mμ,
223 mμ.

NMR (0.4 M in CDCl₃) ⁺⁺:

NH -0.66; H₆ 2.79, 2.93; H₅ 3.55, 3.68; H₁, 4.34, 4.37; H₅, 5.64

⁺ Alle Substanzen gaben zufriedenstellende Elementaranalysen.

⁺⁺ NMR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer-Gerät (60 kHz) bei ca 32° C mit Tetramethylsilan (10 ppm) als innerem Standard aufgenommen. Die chemische Verschiebung wurde in ppm angegeben.

5'-O-Acetyl-2',3'-O-isopropyliden-5-methyl-4-thiouridin (V):

$C_{15}H_{20}O_6N_2S$ MG 356.41 Fp 171 - 172° C (Äthanol)

UV (Methanol) λ_{max} 330 m μ (ϵ 19.68 \cdot 10³), 244 m μ (ϵ 3.82 \cdot 10³);

λ_{min} 282 m μ , 255 m μ .

NMR (0.4 in CDCl₃)

NH -0.66; H₆ 2.85; H₁, 4.34; H₅, 5.66; 5-CH₃ 7.91;

2',3'-O-Isopropyliden-4-thiouridin (VI):

$C_{12}H_{16}O_5N_2S$ MG 300.35 Fp 184° C (Äthanol); UV (Methanol)

λ_{max} 330 m μ (ϵ 2.2 \cdot 10⁴), 247 m μ (4.6 \cdot 10³); λ_{min} 277 m μ ,

222 m μ .

NMR (0.4 M in d-DMSO)

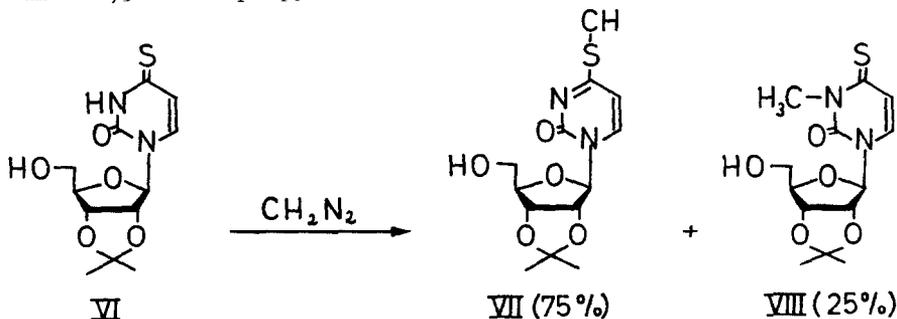
H₆ 2.27, 2.39; H₅ 3.68, 3.81; H₁, 4.22, 4.26; H₅, 6.41, 6.49;

VI wurde durch Hydrolyse von IV mit NH₄OH_{conc.} bei Raumtemperatur erhalten. Dabei wurde weder Oxidation zum entsprechenden Disulfid von VI, noch Hydrolyse zu 2',3'-O-Isopropylidenuridin, noch Aminolyse zu 2',3'-O-Isopropylidencytidin beobachtet. V reagiert in äthanolischer Lösung mit NH₃ im Bombenrohr bei 100° C in 90 %iger Ausbeute zu 2',3'-O-Isopropyliden-5-methylcytidin.

Die NMR-Spektren von IV und V zeigen, daß diese Substanzen in Chloroform nahezu völlig in der Thio-Ketoform vorliegen. Das NMR-Spektrum von VI in d-DMSO läßt kein einwandfrei identifizierbares Signal eines N-H-Protons erkennen. Ein ähnliches Phänomen beobachteten wir auch bei 2',3'-O-Isopropylidenuridin und 2',3'-O-Isopropylideninosin.

Die Methylierung von V mit 10-fachem Überschuß Diazomethan in Methanol bei 0° C führte zu den Verbindungen 1-(β -D-2',3'-O-isopropylidenribofuranosyl)-S⁷-methyl-4-thiopyrimidin-2-on (VII)

und 2',3'-O-Isopropyliden-N³-methyl-4-thiouridin (VIII).



(VII) : $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ MG 314.37 Fp 212-125° C (Äthanol)

UV (Methanol) λ_{max} 300 $\text{m}\mu$ (ϵ 12.0 · 10³), Schulter 283 $\text{m}\mu$
 (ϵ 12.0 · 10³), λ_{min} 238 $\text{m}\mu$.

Massenspektrum: M^+ = 314 m/e; Nucleobase + 1 = 142 m/e

NMR (100 mg/ml in d-DMSO)

H_6 1.88, 2.00; H_5 3.48, 3.60; H_1 , 4.18; S-CH₃ 7.52;

(VIII) : $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ MG 314.37 Fp 183 - 184° C (Äthanol)

UV (Methanol) λ_{max} 325 $\text{m}\mu$ (ϵ 19.8 · 10³), 250 $\text{m}\mu$ (ϵ 3.95 · 10³),
 λ_{min} 275 $\text{m}\mu$, 225 $\text{m}\mu$.

Massenspektrum: M^+ = 314 m/e; Nucleobase + 1 = 142 m/e

NMR (100 mg/ml in d-DMSO)

H_6 2.23, 2.36; H_5 3.42, 3.55; H_1 , 4.19, 4.22; N-CH₃ 6.40;

VII reagierte in äthanolischer Lösung mit NH₃ im Bombenrohr bei 100° C quantitativ zu 2',3'-O-Isopropylidencytidin.

III reagierte in Methanol bei 0° C in ähnlicher Weise mit 10 äquiv. Diazomethan wie VI. Neben 1-(β-D-Ribofuranosyl)-S⁷-methyl-4-thiopyrimidin-2-on (IX; 67 %) und N³-Methyl-4-thiouridin (X; 25 %) entstanden zwei Dimethylderivate, von denen wir annehmen, daß es sich um IX und X handelt, welche in 2'-oder 3'-Position

des Riboseresestes methyliert worden sind.

(IX) : $C_{10}H_{14}O_5N_2S$ MG 274.13 Fp 158-159° C (Äthanol)

UV (Wasser, pH 7) λ_{\max} 303 m μ (ϵ 14.1 · 10³), Schulter 282 m μ
(ϵ 9.35 · 10³), λ_{\min} 240 m μ .

(X) : $C_{10}H_{14}O_5N_2S$ MG 274.13 Fp 147-148° C (Äthanol)

UV (Wasser, pH 7) λ_{\max} 328 m μ (ϵ 2.13 · 10⁴), 262 m μ (ϵ 3.48 · 10³),
254 m μ (ϵ 3.58 · 10³); λ_{\min} 280 m μ , 248 m μ ;

Die Methylierung von 2',3'-O-Isopropylidenuridin mit Diazomethan führt ausschließlich zu dem entsprechenden N³-Methylderivat, dagegen entstehen mit VI unter den gleichen Bedingungen 75 % S-Methylderivat (VII). Der Grund dafür ist sicher die größere Nucleophilizität des Schwefelatom in VI.

Dünnschichtchromatographie:

Lösungsmittel: Chloroform/Methanol = 97/3 (V/V) [A]

Chloroform/Methanol = 80/20 (V/V) [B]

n-Butanol, gesättigt mit Wasser [C]

Präparative Dünnschichtchromatographie: Silicagel PF₂₅₄
(E. Merck AG, Deutschland)

Analytische Dünnschichtchromatographie: Silicagel-Dünnschichtplatten F₂₅₄ (E. Merck AG, Deutschland).

Tabelle der R_F - Werte

	A	B	C
I	0.38		
II	0.42		
III		0.50	0.75
IV	0.88		
V	0.85		
VI	0.33		
VII	0.40		
VII	0.58		
IX		0.61	0.80
X		0.73	0.64

Ich danke Herrn Prof. F. Cramer für die Förderung dieser Arbeit und Frl. Ch. Beckers für ihre Mitarbeit.

- 1) M. N. Lipsett, J. Biol. Chem. 240, 3975 (1965)
- 2) K. H. Scheit, Chem. Ber. in Druck
- 3) J. J. Fox et al., J. Amer. Chem. Soc. 81, 178 (1959)