

Diuridin-3',5'-thiophosphat

Fritz Eckstein

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

(Received in Germany 2 June 1967)

Dithymidin-3',5'-thiophosphat ist gegen Schlangengift- und Milzphosphodiesterase resistent ¹⁾. Es ist von Interesse zu untersuchen, wie sich Diuridin-3',5'-thiophosphat gegenüber diesen Enzymen und Pancreasribonuclease verhält.

Um eine spezifische 3'—→5'-Verknüpfung des Dinucleosidthiophosphats zu erhalten, ist es nötig ein 5',2'-geschütztes Uridinderivat zur Verfügung zu haben, da nur Nucleosid-5'- aber keine Nucleosid-3'-thiophosphate zugänglich sind. Die bis jetzt beschriebenen Synthesen ^{2,3,4)} solcher 5',2'-geschützter Uridinderivate schienen uns nicht befriedigend. Wir versuchten daher ausgehend von 3'-O-Acetyluridin ⁵⁾ eine neue Synthese.

Setzt man 3'-O-Acetyluridin (I) (3 mMol) in Dioxan (35 ml) mit Äthylvinyläther (7.5 mMol) und p-Toluolsulfonsäure (40 mg) um (15 Min., Raumtemperatur), gießt die Reaktionslösung in Wasser (150 ml) und schüttelt mit Chloroform aus, so erhält man nach Trocknen mit Na₂SO₄ in nahezu quantitativer Ausbeute II (Rf 0.92). Über Kieselgelplatten (Merck PF₂₅₄, Chloroform /

Methanol = 95 / 5) kann man von Spuren 3'-O-Acetyluridin
(Rf 0.21) und polymeren Vinyläther trennen.

[Anal. $C_{19}H_{30}O_9N_2$ (430.44)

Ber.: C 53.01; H 7.02; N 6.50;

Gef.: C 52.99; H 6.43; N 7.12;

$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$: 262 $m\mu$]

Hydrolysiert man II in konz. Ammoniak für 2 Std., so erhält
man quantitativ III, das zur Analyse wie oben über Kieselgel
gereinigt wurde (Rf 0.83).

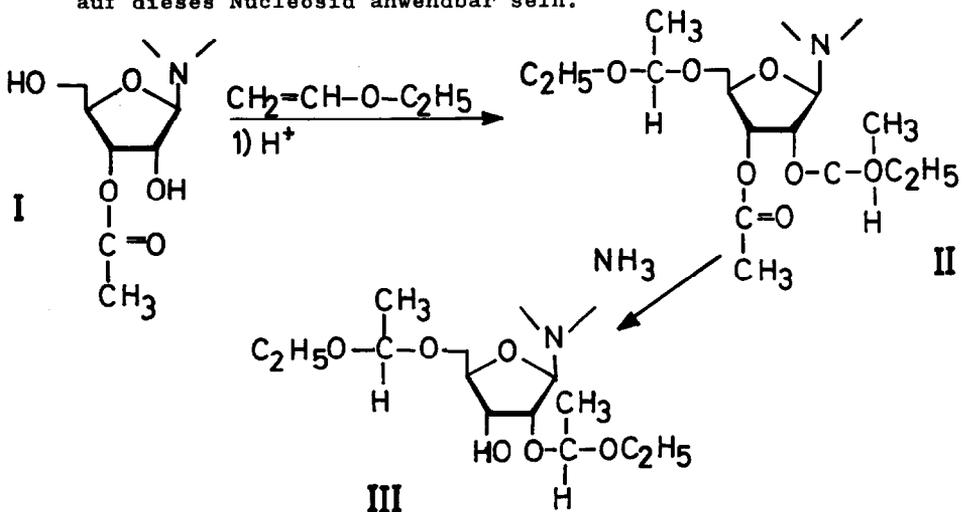
[Anal. $C_{17}H_{28}O_8N_2$ (388.40)

Ber.: C 52.57; H 7.27; N 7.21;

Gef.: C 52.03; H 7.31; N 6.92;

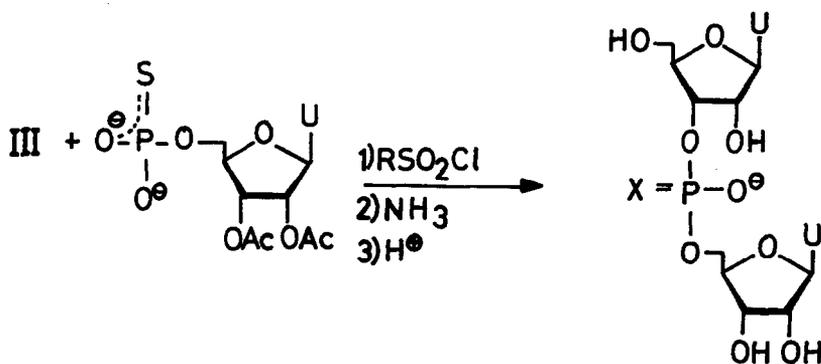
$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$: 262 $m\mu$]

Da 3'-O-Acetylribonucleoside außer von Uridin auch von
Adenosin beschrieben sind ⁵⁾, sollte diese Synthese auch
auf dieses Nucleosid anwendbar sein.



Um III auf seine Verwendbarkeit zur Synthese von Dinucleosid-3',5'-phosphaten zu prüfen, setzten wir es mit 2',3'-Diacetyluridin-5'-phosphat und Triisopropylbenzolsulfonylchlorid (im Molverhältnis 1:1:2) in Pyridin um (10 Stdn., Raumtemperatur). Nach Behandlung mit konz. Ammoniak für 2 Stdn. wurde an einer DEAE-Cellulosesäule chromatographiert. Der neben den Ausgangsprodukten erhaltene Diester wurde für 5 Stdn. mit 10-proz. Essigsäure bei Raumtemperatur behandelt und wieder an einer DEAE-Cellulosesäule chromatographiert. Wir erhielten so UpU in 50-proz. Ausbeute. Ca. 2 % wurden von Pancreasribonuclease nicht gespalten.

Die Umsetzung von III (1 mMol) mit 2',3'-Diacetyluridin-5'-thiophosphat ⁶⁾, das ca. 23 % 2',3'-Diacetyluridin-5'-phosphat enthielt ¹⁾, erfolgte in der gleichen Weise.



IVa, X = O

IVb, X = S

Die erste Chromatographie an DEAE-Cellulose lieferte neben den Ausgangsmaterialien 2 Fraktionen, die Diester (Elektrophorese) enthielten [A = 4000 OD-Einheiten (262 m μ) (20 %); B = 4600 OD-Einheiten (262 m μ) (23 %)].

A und B wurden getrennt mit Essigsäure wie oben behandelt und getrennt wieder an DEAE-Cellulose chromatographiert.

A lieferte dabei hauptsächlich UpU (IVa) [2600 OD-Einheiten (262 m μ) (13 %); Rf 0.47⁷⁾]. B lieferte hauptsächlich Diuridin-3',5'-thiophosphat (IVb) [2200 OD-Einheiten (262 m μ) (11 %);

Anal. C₁₈H₂₂N₄O₁₃PSNa X 12 H₂O (814.43)

Ber.: N 6.87; P 3.80; S 3.93;

Gef.: N 6.81; P 3.60; S 3.91;

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$: 262 m μ ; Rf 0.52⁷⁾]

Dieses Produkt wird von 0.3 mol KOH (37^o, 18 Stdn.) gespalten. Gegen Milzphosphodiesterase⁸⁾ ist es stabil. Von Schlangengiftphosphodiesterase (10 μ g/0.5 μ Mol Substrat, 12 Stdn., 37^o) wird es zu ca. 25 %, von Pancreasribonuclease (50 μ g/0.5 μ Mol Substrat, 12 Stdn., 37^o) zu ca. 90 % abgebaut.

Einzelheiten über den Verlauf des enzymatischen Abbaus sind in Arbeit.

Herrn Prof. F. Cramer möchte ich für großzügige Unterstützung dieser Arbeit, Herrn R. Rackwitz für geschickte Mitarbeit und Herrn Dr. C. B. Reese für die Überlassung experimenteller Einzelheiten vor ihrer Veröffentlichung danken.

Literatur

- 1) F. Eckstein, Tetrahedron Letters 1967, 1157.
- 2) B. E. Griffin, C. B. Reese, Tetrahedron Letters 1964, 2925.
- 3) B. E. Griffin, C. B. Reese, G. F. Stephenson, D. R. Trentham, Tetrahedron Letters 1966, 4349.
- 4) J. Smrt, A. Holy, Tetrahedron Letters 1967, 981.
- 5) H. P. M. Fromageot, B. E. Griffin, C. B. Reese, J. E. Sulston, Tetrahedron 23, 2315 (1967).
- 6) F. Eckstein, J. Amer. chem. Soc. 88, 4292 (1966).
- 7) Papier Schleicher & Schüll 2043 b gewaschen;
Laufmittel = Propanol-(2)/konz. $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ (7:1:2, v/v).
- 8) Freundlicherweise von Herrn Dr. H. Sternbach zur Verfügung gestellt.