

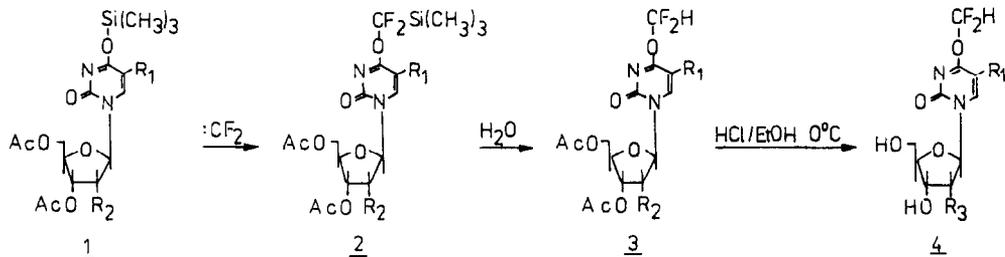
ZUR SYNTHESE VON DIFLUORMETHYLETERN VERSCHIEDEN SUBSTITUIERTER
 PYRIMIDINNUCLEOSIDE DURCH REAKTION MIT DIFLUORCARBEN

C.-D. Pein und D. Cech

Sektion Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin, DDR-1040 Berlin Invalidenstr. 42

Abstract: The reaction of CF_2 with different substituted persilylated pyrimidine nucleosides either in the ribo-, 2'-deoxyribo- or in the arabino-series gave the corresponding 4-O-difluoromethylethers. Optimum yields were obtained using $\text{Hg}(\text{CF}_3)_2$ as source of CF_2 .

Mit nur wenigen Ausnahmen sind alle bisher bekannten antiviralen Chemotherapeutika aus der Klasse der Nucleoside. Seit Bekanntwerden der selektiv wirkenden Verbindungen 9-(2-Hydroxyethoxymethyl)guanin (Acyclovir) und (E)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin /1/ sind die Anstrengungen verstärkt worden, Verbindungen mit gleicher oder besserer Selektivität und breiterer Anwendbarkeit zu synthetisieren. Mit der Synthese von Difluormethylethern verschieden substituierter Pyrimidinnucleoside durch Reaktion mit Difluorcarben gelang uns die Darstellung einer Reihe unbekannter Vertreter dieser Stoffklasse. Das Syntheseprinzip beruht auf der Umsetzung peracetylierter 4-O-Trimethylsilylnucleoside (1a-g) /2/ mit Difluorcarben in THF zu 2a-g, wobei das CF_2 nach Knunjanz /3/ aus Bistrifluormethylquecksilber erzeugt wurde. Anstelle einer Additionsreaktion an die 5,6-Doppelbindung der Pyrimidinbase erfolgt eine Einschubreaktion in die Schema 1



Ac = COCH_3

- | | |
|---|---|
| a) $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OAc}$; $R_3 = \text{OH}$ | e) $R_1 = \text{CH}_3$; $R_2, R_3 = \text{H}$ |
| b) $R_1 = \text{F}$; $R_2 = \text{OAc}$; $R_3 = \text{OH}$ | f) $R_1 = \text{C}_2\text{H}_5$; $R_2, R_3 = \text{H}$ |
| c) $R_1 = \text{Br}$; $R_2 = \text{OAc}$; $R_3 = \text{OH}$ | g) $R_1 = \text{Br}$; $R_2, R_3 = \text{H}$ |
| d) $R_1 = \text{I}$; $R_2 = \text{OAc}$; $R_3 = \text{OH}$ | |

Silicium-Sauerstoffbindung der Pyrimidinnucleoside. Nach Hydrolyse, Abspalten der Schutzgruppen mit HCl in Ethanol bei 0°C und chromatographischer Reinigung an Kieselgel und Sephadex G 10 konnten die 4-O-Difluormethylnucleoside 4a-g quecksilberfrei in ca. 50% Ausbeute erhalten werden, deren analytische Daten in Tabelle 1 zusammengefaßt sind.

Unter der Annahme, daß die O- CF_2H -Ether über eine Einschubreaktion in die Si-O-Bindung gebildet werden (Schema 1), lag der Versuch nahe, neben den heteroaromatischen Pyrimidinsilyl-

Tabelle 1

Charakteristische analytische Daten von 4-O-Difluormethylpyrimidinnucleosiden der Ribos- und 2'-Desoxyribosereihe

Verbindung	Fp. [°C]	λ_{\max}^1 [nm]	M^+ [m/e]	$^1\text{H-NMR}^2$ δ [ppm]		
				CF_2H	H_6	$\text{H}_{1'}$
a	153	269	294	7,51 (57,5)	7,98 (8)	5,67 (4)
b	173-75	273	312	7,63 (57,5)	8,48 (7)	5,67 (m)
c	Schaum	287	372/374			
d	177-178	296	420	7,54 (57,5)	8,57 (-)	5,57 (3)
e	Schaum	275	292	7,57 (57,5)	7,78 (-)	6,03 (6,5)
f	Schaum	271,5	306	7,57 (57,5)	7,78 (-)	6,06 (6,5)
g	Schaum	287,5	356/358			

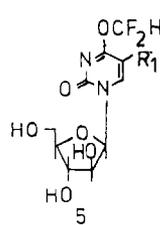
¹in Methanol ; ²in DMSO-D₆, TMS als externer Standard, in Klammern J [Hz]

ethern auch aliphatische Silylether mit Difluorcarben umzusetzen, um zu untersuchen, ob sich alkoholische Hydroxylfunktionen auf diese Weise difluormethylieren lassen. Dafür boten sich Versuche der Difluormethylierung im unterschiedlich geschützten Kohlenhydratteil der Nucleoside an. Die Umsetzung von 1-(2,3-Isopropyliden-5-O-trimethylsilyl-β-D-ribofuranosyl)-4-O-trimethylsilyluracil mit Difluorcarben führt lediglich zum 2',3'-Isopropyliden-4-O-difluormethyluridin. Die ebenfalls zu erwartenden 5'-Difluormethylprodukte entstehen nicht. Auch eine Umsetzung von persilyliertem Uridin oder Thymidin führt einheitlich zu den 4-O-Difluormethyl-nucleosiden. Eine Difluormethylierung im Zucker erfolgt nicht. Andererseits gelingt die Synthese des aliphatischen 2,2,2-Tribromethyl-difluormethylethers /4/ aus 2,2,2-Tribromethanol nach Silylierung und CF₂-Einschub. Ausschlaggebend dafür dürfte die wesentlich gesteigerte Acidität des 2,2,2-Tribromethanols gegenüber den alkoholischen Funktionen der Kohlenhydratkomponente der Nucleoside sein. Die bevorzugte Einschubreaktion bei den Nucleosiden in den silylierten aromatischen Heterocyclus ist damit ebenfalls auf die höhere Stabilität der Si-O-Bindung einer silylierten aliphatischen (wenig aciden) Hydroxyfunktion gegenüber der silylierten aromatischen Hydroxygruppe zurückzuführen. Somit findet sich die CF₂-Einschubreaktion in der Pyrimidinbase in Übereinstimmung mit der bevorzugten Acylierung der Pyrimidinbase in persilylierten Nucleosiden /5/ und des bevorzugten Austausches von O-Si-Gruppen am Heterocyclus /6/.

Die ausschließliche Difluormethylierung in der Pyrimidinbase gestattet bei der Syntheseoptimierung einen Einsatz ungeschützter Nucleoside. Diese lassen sich nach einer Persilylierung mit Hexamethyldisilazan /2/ ohne Beseitigung des Silylierungsmittels direkt mit Difluorcarben umsetzen. Das Nucleosid wird dazu bis zur vollständigen Auflösung bei 120°C in HMDS gerührt, nach dem Abkühlen mit THF versetzt und unter Inertgas zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von NaI wird die erforderliche Menge einer Lösung von Hg(CF₃)₂ in THF langsam zugetropft. Nach unseren Erfahrungen wird das CF₂ in etwa 4-6 fachem Überschuß benötigt. Zusätzlich zu den in Tabelle 1 aufgeführten Verbindungen wurde damit der Zugriff zu einigen biologisch bedeutsamen Arabino-furanosyl-nucleosiden möglich (Tabelle 2). Die Verfahrensvereinfachung führt zu höheren Ausbeuten (60%), wobei halogensubstituierte Nucleoside besser reagieren als alkylierte.

Tabelle 2

Analytische Daten von 4-O-Difluormethylarabinofuranosylpyrimidinnucleosiden

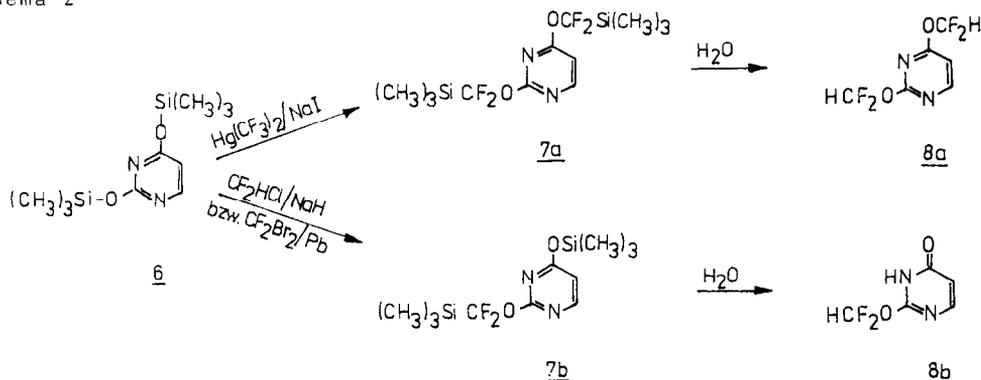
	Verbindung	Fp.	λ_{\max}^1	M^+	$^1\text{H-NMR}^2$ δ [ppm]		
	$\underline{5}$ R ₁	[°C]	[nm]	[m/e]	CF ₂ H	H ₆	H _{1'}
a	H	154-56	271,0	294	7,56 (57)	7,65 (8)	5,86 (4)
b	F	Schaum	277,5	312	7,91 (57)	8,37 (7)	6,18 (m)
c	Br	Schaum	287,5	372/374	7,59 (57)	8,14 (-)	5,88 (4,5)
d	I	207-08	296,5	420	7,57 (57)	8,15 (-)	5,85 (4)
e	CH ₃	139	276,5	308	7,58 (57)	7,58 (-)	5,87 (4)

¹ in Methanol ;² in DMSO-D₆, TMS als externer Standard, in Klammern J [Hz]

Bei der massenspektrometrischen Untersuchung der dargestellten Verbindungen wurde in jedem Fall der Molekülionenpeak gefunden. Neben den üblichen Fragmenten (Base, Base+1, Zucker) treten mit B-93 (NCOCF₂H), B-67 (OCF₂H) und m/e=51 (CF₂H) erwartete typische Fragmente auf. Anhand der Massenspektren lassen sich die 1-β-D-Ribofuranosylnucleoside von den entsprechenden 1-β-D-Arabinofuranosylnucleosiden deutlich unterscheiden. So tritt bei den Ribofuranosylnucleosiden das Fragment mit der Massenzahl m/e = M⁺-31 nicht oder nur mit sehr geringer Intensität auf, während dieses Fragment bei den Arabinofuranosylnucleosiden stets eines der intensivsten im oberen Massenbereich ist. Das steht im Einklang mit anderen von uns gefundenen Ergebnissen /7/. Die ¹H-NMR-Spektren der 4-O-Difluormethylribofuranosyl- und 4-O-Difluormethyl-2'-desoxyribofuranosylnucleoside zeigen gegenüber den in 4-Position unsubstituierten Analoga eine deutliche Verschiebung des H₆ zu tieferem Feld. Als Ursache dafür kann angenommen werden, daß elektronegative Substituenten die Acidität des H₆ erhöhen, woraus eine erhöhte Wasserstoffbrücken-Wechselwirkung mit der exocyclischen Gruppe resultiert (vergl. /8/). Die 4-O-Difluormethylarabinofuranosylnucleoside zeigen im Gegensatz dazu für H₆ eine Verschiebung zu höherem Feld in Bezug auf die in 4-Position unsubstituierten Nucleoside. Die größere Abschirmung des H₆ ist hier nur durch eine Aufhebung der Wasserstoffbrückenbindung in den difluormethylierten Arabinofuranosylnucleosiden zu erklären. Die Einführung elektronenziehender Substituenten in die Pyrimidinbase führt desweiteren zu einer stärkeren Abschirmung des H_{1'}, bedingt durch einen wachsenden N-Anteil im exo-endo-Verhältnis des Zuckers /8/.

Schließlich wurden verschiedene Verfahren der CF₂-Bereitstellung auf ihre Anwendbarkeit zur Synthese der 4-O-Difluormethylnucleoside untersucht. Sowohl die Reduktion von Dibromdifluormethan mit elementarem Blei nach Fritz und Kornrumpf /9/ als auch die alkalische Hydrolyse von Freon 22 (CF₂HCl) mit Natriumhydrid /10/ führten jedoch nicht zu befriedigenden Ergebnissen. Durch Druckreaktion bei erhöhter Temperatur (110°C) konnten die erwarteten 4-O-Difluormethylnucleoside nur in schlechten Ausbeuten (bis zu 5%) isoliert werden. Stattdessen wurde eine starke PTFE-Bildung beobachtet. Offensichtlich ist die Reaktivität des erzeugten Carbens von ausschlaggebender Bedeutung. Wie bereits mehrfach beschrieben, ist das aus Quecksilberverbindungen erzeugte Carben bedeutend reaktiver als anderweitig erzeugtes CF₂ /11,12/. In Übereinstimmung damit steht auch die Beobachtung, daß 2,5-O-Bis(trimethylsilyl)uracil **6** mit CF₂ aus Hg(CF₃)₂/NaI über die Zwischenstufe **7a** zu **8a** reagiert, während bei Einsatz anderer CF₂-Generatoren wie CF₂Br₂/Pb oder CF₂HCl/NaH auch bei großem Überschuß über

Schema 2



die Zwischenstufe 7b ausschließlich 8b gebildet wird.

Die unterschiedliche Reaktivität der 2 und 4 Position im silylierten Uracil gegenüber Difluorcarben kommt ebenso dadurch zum Ausdruck, daß sich unter entsprechenden Bedingungen (molares Verhältnis von CF_2) auch mit Hilfe von $\text{Hg}(\text{CF}_3)_2/\text{NaI}$ das 2-O-Difluormethyluracil 8b darstellen läßt, während das ebenfalls zu erwartende 4-O-Difluormethyluracil nicht erhalten wird (vergl. /13/).

Die biologische Testung brachte eine Reihe interessanter Ergebnisse. Während die verschiedenen 4-O-Difluormethyl-2'-desoxynucleoside 4e,f,g bei der Testung gegen Herpesviren nur geringe antivirale und keine cytostatischen Effekte zeigten, weisen die 4-O-Difluormethyl-ribofuranosylnucleoside 4a-d deutliche cytostatische und antivirale Eigenschaften auf. Bedeutungsvoll sind die guten antiherpetischen Effekte einiger 4-O-Difluormethylarabinofuranosylnucleoside, die sich durch eine hohe Selektivität auszeichnen. So betragen die ED-50 Werte bei der Testung gegen HSV-1 bei 5e 1,5 μM und bei 5c 7 μM . Beide Verbindungen zeigen bis zu einer Konzentration von 1000 μM keinerlei toxische Wirkung auf Zellen. Die ausführlichen Ergebnisse der biologischen Testung werden demnächst veröffentlicht /14/.

References

- /1/ E.de Clercq, Biochem.J. 205, 1 (1982).
- /2/ Darstellung der Silylnucleoside in M.V.Winkley u. R.K.Robins, J.Org.Chem. 33, 2822 (1968).
- /3/ I.L.Knunjanz, J.F.Komissarow, D.L.Djatkin u. L.T.Lanzewa, Izv.Akad.Nauk SSSR, Ser.Chem., 943 (1977).
- /4/ Die Instabilität des 2,2,2-Tribromethyl-difluormethylethers verhinderte bisher seine Isolierung in Substanz; die Struktur wurde aus GC/MS-Spektren der silylierten Verbindung geschlußfolgert.
- /5/ H.J.Fritz, W.B.Frommer, W.Kramer u. W.Werr (1982) in Chemical and Enzymatic Synthesis of Gene Fragments, A Laboratory Manual, H.G.Gassen and A.Lang, A.Eds., pp 43-52, Verlag Chemie, Weinheim, Bundesrepublik Deutschland.
- /6/ H.Vorbrüggen, K.Krolikiewicz u. U.Niedballa, Liebigs Ann.Chem., 988 (1975).
- /7/ L.Alder, D.Cech u. C.D.Pein, Z.Chem. im Druck.
Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrometer HP 5995 A Hewlett Packard aufgen.
- /8/ W.Uhl, Dissertationsschrift, Darmstadt Techn.Hochschule (1981).
- /9/ H.P.Fritz u. W.Kornrumpf, Z.Naturforsch. 36b, 1375 (1981).
- /10/ P.Bey u. J.P.Vevert, J.Org.Chem. 44, 2732 (1979).
- /11/ D.J.Burton u. J.L.Hahnfeld, Fluorine Chem.Rev. 8, 119 (1977).
- /12/ H.P.M.Thiellier, G.J.Koomen u. U.K.Pandit, Tetrahedron London 33, 1493 u. 2603 (1977).
- /13/ C.D.Pein u. D.Cech, Z.Chem. im Druck.
- /14/ J.Reefschläger, D.Cech, C.D.Pein, J.Med.Chem. im Druck.

(Received in Germany 25 June 1985)