

ÜBER DIE SYNTHESE NEUER ZUCKERDERIVATE MIT POTENTIELLER CYTOSTATISCHER WIRKSAMKEIT

TEIL XIV*. 2,3:4,5-DIANHYDRO-1,6-DI-*O*-(METHYLSULFONYL)-D- UND L-IDITOL AUS
1,2,5,6-TETRA-*O*-(METHYLSULFONYL)MANNITOL

T. HORVÁTH UND L. VARGHA

Institut für Arzneimittelforschung, Szabadságharcosok útja 47–49, Budapest IV (Ungarn)

(Eingegangen am 20. April, 1970)

ABSTRACT

1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D- and -L-mannitol gave in alkaline medium 2,3:4,5-dianhydro-1,6-di-*O*-(methylsulfonyl)-L- and -D-itol, respectively. The structure of the anhydro compounds, which have a significant cytostatic activity, has been determined.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus 1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D- und -L-mannitol entsteht in alkalischem Medium 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-(methylsulfonyl)-L-, bzw. -D-itol. Die Konstitution der Anhydro-Verbindungen, welche eine signifikante cytostatische Wirkung haben, wird bewiesen.

EINLEITUNG

Es wurde vor einigen Jahren über die chemischen² und biologischen³ Eigenschaften des von uns hergestellten 1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitols berichtet. Die Substanz ist in Tierversuchen auf das Blutbild verhältnismässig wenig wirksam, sie übt jedoch überraschenderweise eine signifikante Hemmung auf das Wachstum von einigen soliden Tumoren aus. Da später die hemmende Wirkung auch an manchen menschlichen Tumoren in der Klinik beobachtet wurde⁴, verwendet man die Substanz in Ungarn unter dem Namen "Zitostop" für die Behandlung von verschiedenen bösartigen Geschwülsten. Die merkwürdigen Eigenschaften des Tetra-*O*-mesyl-D-mannitols (mesyl = methylsulfonyl), welche von denen anderer Hexitolderivate [z.B. 1,6-Di-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitol ("Mannogranol", Mannitol-myleran), 1,6-Dibrom-1,6-didesoxy-D-mannitol ("Myelobromol")] abweichen,

*XIII. Mitteil., siehe Ref. 1.

veranlasste uns, dessen Darstellungsweise bekannt zu geben und seine chemische Eigenschaften näher zu studieren.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Zur Darstellung von 1,2,5,6-Tetra-*O*-mesyl-D-mannitol (**3**) wurde 3,4-*O*-Isopropyliden-D-mannitol⁵ (**1**), dessen Darstellungsweise verbessert werden konnte, in üblicher Weise methansulfoniert und das kristallin erhaltene 1,2,5,6-Tetra-*O*-mesyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol (**2**) in salzsäurehaltigem Methanol entacetalisiert.

Beim Stehen des Tetramesyl-Derivates **3** in schwach alkalischer Lösung erhielten wir in guter Ausbeute eine kristalline Substanz, welche sich nach der Analyse und auf Grund der unten geschilderten chemischen und spektroskopischen Beweise als 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-(methylsulfonyl)-L-iditol (**4**) erwies.

Das Vorhandensein von Oxyran- oder Oxäthan-Ringen folgt aus der Reaktion des Dianhydro-Derivates **4** mit Salzsäure und Bromwasserstoffsäure, wobei sich unter Öffnung der labilen Ringe einheitliche Dihalogen-1,6-dimesylhexitole bilden, deren Konstitution bisher nicht mit Sicherheit bestimmt werden konnte. Oxydationsversuche mit Natriumperjodat verliefen negativ, die Anwesenheit von benachbarten Hydroxylen ist damit unwahrscheinlich. Die Lage der Methylsulfonyl-Gruppen und der Anhydro-Ringe, sowie die Konfiguration der Dianhydro-Verbindung **4** ergab sich eindeutig aus dem Ergebnis der Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid, wobei das von Serck-Hansen und Mitarbeiter⁶ auf anderem Wege gewonnene 1,3,4,6-Tetradeoxy-L-*threo*-hexitol (**5**) entstand. Es folgt also, daß bei der Behandlung des 1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitols mit Alkalien die 2- und 5-ständigen Methylsulfonyloxy-Gruppen mit Waldenscher Umkehrung, folglich unter Bildung eines L-Iditol-Derivates **4**, abgespalten werden. Die i.r.- und n.m.r.-Spektren der Verbindung **4**, welche im Versuchsteil angegeben sind, unterstützen die obige Struktur.

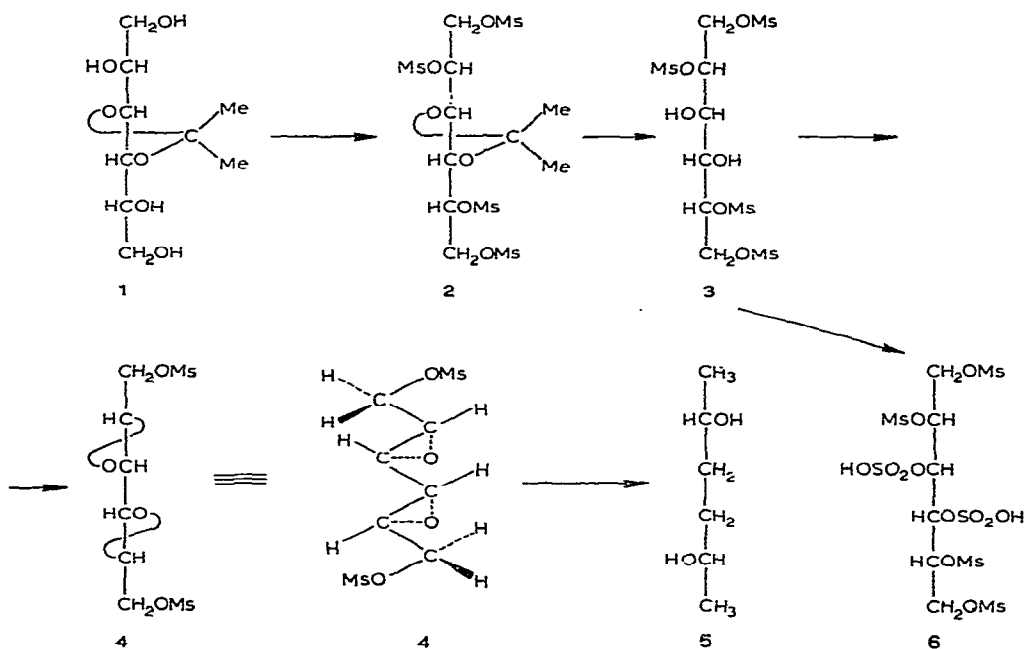
Die erwähnten Versuche lassen natürlich nicht entscheiden, ob die beiden Ringe Oxyran- oder Oxäthan-Ringe sind. Da sich allgemein die Oxyran-Ringe bevorzugt bilden, haben wir in unserer Dianhydro-Verbindung gleichfalls Oxyran-Ringe angenommen. Diese Annahme konnte auch von anderer Seite bekräftigt werden. Kürzlich haben nämlich amerikanische⁷ und britische⁸ Forscher zwei unsubstituierte Dianhydrohexitole beschrieben, denen sie aus guten Gründen die Formel von 2,3:4,5-Dianhydro-D-, bzw. -L-iditol zuschreiben. Die Methylsulfonylierung des 2,3:4,5-Dianhydro-L-iditols von Jarman und Ross⁸ lieferte ein Dimethylsulfonat, welches sich mit unserem 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-(methylsulfonyl)-L-iditol (**4**) als identisch erwies.

Für biologische Prüfungen haben wir aus 3,4-*O*-Isopropyliden-L-mannitol⁹ auf ähnliche Weise auch den mit **4** enantiomeren 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-(methylsulfonyl)-D-iditol und aus 1,2,5,6-Tetra-*O*-*p*-tolylsulfonyl-D-mannitol¹⁰ den 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-*p*-tolylsulfonyl-L-iditol hergestellt.

Die biologische Untersuchung¹¹ — worüber an anderer Stelle ausführlich

berichtet wird—ergab, daß 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-(methylsulfonyl)-L-iditol (**4**) in Tierversuchen auf das Wachstum von verschiedenen Tumoren eine bedeutende hemmende Wirkung ausübt, während das Blutbild—abweichend von den meisten bekannten biologisch alkylierend wirkenden Mitteln—verhältnismäßig weniger verändert wird. Die Wirkungsweise des Dianhydro-Derivates **4** ist also sehr ähnlich zu der des 1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitols (**3**, Zitostop). Deshalb kann man annehmen, daß das Tetramesyl-Derivat **3** seine Wirkung über das Dianhydro-Derivat **4** ausübt. Dafür spricht die leichte *in vitro* Bildung des letzteren **4** aus der Tetramesyl-Verbindung **3** in schwach alkalischen Medium, also fast unter physiologischen Bedingungen. Ob die beiden Epoxyd-Ringe eine wesentliche, d.i. eine biologisch alkylierende Rolle haben, soll vorläufig dahingestellt bleiben, weil die beiden unsubstituierten 2,3:4,5-Dianhydroiditole sich nach unseren vorläufigen Prüfungen so gut wie inaktiv erwiesen. Tipson, sowie Jarman und Ross veröffentlichten über die biologische Wirksamkeit dieser Verbindungen bisher nichts. Dagegen soll die endständige 1,6-Lage der Methylsulfonyloxy-Gruppen wesentlich sein, da das 2,5-Di-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitol als cytostatisch inaktiv gefunden wurde^{2,12}.

Die D-Form des 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-mesyliditols zeigte eine kleinere Toxizität und Aktivität als die L-Form. Auch in diesem Falle ist also die biologische Aktivität—übereinstimmend mit anderen Zuckerderivaten¹³—von der Konfiguration abhängig.



Das 2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-*O*-*p*-tolylsulfonyl-L-iditol wurde bedeutend weniger wirksam gefunden als das entsprechende Mesyl-Derivat.

Es sei noch erwähnt, daß das in Wasser schwer lösliche 1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitol (3) in 3,4-Stellung mit Schwefelsäure verestert wurde, jedoch die erhaltene, in Wasser gut lösliche Disulfat-Verbindung 6 erwies sich als biologisch inaktiv.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die i.r.-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer 457, die n.m.r.-Spectra mit einem Jeol I.N.M.-C-60 Spectrometer aufgenommen. Die Dünnschicht-Chromatographie wurde an Kieselgel-G mit Äthylacetat, oder wässrigem Butanol durchgeführt und mit schwefelsäurem Kaliumpermanganat sichtbar gemacht. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

3,4-Isopropyliden-D-mannitol (1). — Die von Wiggins⁵ beschriebene Darstellungsweise wurde etwas modifiziert. Eine Lösung von 100 g 1,2:3,4:5,6-Tri-*O*-isopropyliden-D-mannitol in einem Gemisch von 1100 ml Methanol und 110 ml 0,5*M* Schwefelsäure wird 2 Std. bei 38–39° aufbewahrt, anschließend 30 Min. bei 15° gerührt, mit 50 g Calciumcarbonat unter Rühren neutralisiert und mit Natronlauge auf pH 8 gebracht. Die filtrierte Lösung wird in Vak. eingedampft, der Rückstand mit 600 ml Benzol gekocht und durch Abdestillieren von 20–50 ml Benzol getrocknet. Die Substanz wird nach Abkühlen abgesaugt, getrocknet und aus Aceton umkristallisiert; Ausbeute 58,8 g (80%), Schmp. 86°, $[\alpha]_D^{20} + 29,8^\circ$ (*c* 1,0, Wasser). Die benzolische Mutterlauge enthält hauptsächlich Di-*O*-isopropyliden-D-mannitol.

3,4-*O*-Isopropyliden-1,2,5,6-tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitol (2). — Zur Lösung von 100 g 3,4-*O*-Isopropyliden-D-mannitol in 400 ml Pyridin werden unter Rühren und Kühlung bei 5–10° 228 g Methylsulfonylchlorid zugegeben. Nach 6-stündigem Rühren bei 20° wird das Reaktionsgemisch auf Eis gegossen, das allmählich kristallin gewordene Produkt abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Methanol umgelöst; Ausbeute 208 g, Schmp. 133–134°, $[\alpha]_D^{20} + 24,5^\circ$ (*c* 3,0, Dioxan).

Anal. Ber. für $C_{13}H_{26}O_{14}S_4$ (535): C, 29,21; H, 4,90; S, 23,98. Gef.: C, 29,20; H, 5,00; S, 24,00.

1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitol (3). — Eine Lösung von 60 g Verbindung 2 in 600 ml 3% salzsäurem Methanol wird 4 Std. unter Rückfluß gekocht, in Vak. eingedampft und der kristalline Rückstand aus 300 ml Äthylacetat umgelöst; Ausbeute 45 g (81%), Schmp. 114–115°, $[\alpha]_D^{20} - 4,9^\circ$ (*c* 5,0, Dioxan).

Anal. Ber. für $C_{10}H_{22}O_{14}S_4$ (494,5): C, 24,28; H, 4,46; S, 25,93. Gef.: C, 24,32; H, 4,60; S, 25,86.

Das Monohydrat von 3 bildet sich bei Umkristallisieren aus Wasser.

1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-D-mannitol-3,4-disulfat (6). — Man läßt zu einer Lösung von 53,5 g Verbindung 3 in 372 ml Pyridin unter Rühren und Kühlung bei 0° 37,7 g Chlorsulfonsäure zutropfen. Nach 2-tägigem Stehen gibt man 1000 ml Äther zu und dekantiert vom ausgeschiedenen Öl ab. Es wird hierauf 3-mal mit je 100 ml Äther, dann mit 500 ml und noch 4-mal mit je 200 ml abs. Äthanol verrührt, wobei das Öl allmählich zu einem Pulver zerfällt. Das so erhaltene rohe Dipyri-

dinsalz wird in Vak. über Schwefelsäure getrocknet (82 g), Schmp. 119–122°. Zur Reinigung wird es bei 50° in 160 ml Acetonitril gelöst, die Lösung mit Kohle behandelt und zunächst mit 150 ml, und dann mit 300 ml Äthanol versetzt. So erhält man 2 Fraktionen (15,6 g, Schmp. 126–127° und 46,5 g, Schmp. 131–132°). Die 2. Fraktion schmilzt nach Umlösen aus Methanol bei 131–132°.

Anal. Ber. für $C_{10}H_{22}O_{20}S_6 \cdot (C_5H_5N)_2$ (812,8): C, 29,55; H, 3,96; N, 3,44; S, 23,7; C_5H_5N , 19,46. Gef.: C, 29,50; H, 4,10; N, 3,30; S, 23,7; C_5H_5N , 19,70.

Dinatriumsalz. Aus der methanolischen Lösung des Pyridinsalzes mit Zugabe der berechneten Menge Natronlauge in Methanol und durch Fällern mit Äther. Zersetzt sich bei 134–165°.

Anal. Ber. für $C_{11}H_{20}O_{20}S_6Na_2$ (698): C, 17,18; H, 2,88; S, 27,53; Asche, 20,3. Gef.: C, 17,12; H, 3,10; S, 27,38; Asche, 19,9.

2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-O-(methylsulfonyl)-L-iditol (4). — (a) Verbindung 3 (49,4 g, 0,1 Mol) wird in 400 ml Aceton unter Rühren bei 15–20° mit 210 ml m-Natronlauge (0,21 Mol) versetzt. Nach 2 Stdn. wird das Reaktionsgemisch mit 400 ml Wasser verdünnt, das Aceton in Vak. vertrieben, das kristalline Produkt abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Aceton umgelöst, Ausbeute 28 g (90%), Schmp. 129–130°, $[\alpha]_D^{20} -64,0^\circ$ (*c* 2,0, Aceton); ν_{max}^{KBr} 3030 (CH_3); 2940 (CH_3); 1465, 1457 (CH_2); 1365 (SO_2); 1180 (SO_2); 980, 965, 840 (SO/C); 525, 495, 465 cm^{-1} (SO_2); n.m.r.-Spektrum (in Dimethylsulfoxyd- d_6): τ 6,75 (6, s, CH_3), 6,73 (4, m, Aufspaltung 28 Hz, H-1, H-6); 5,83 (2, m, Aufspaltung 30 Hz, H-2, H-5), 3,67 (2, m, Aufspaltung 20 Hz, H-3, H-4).

Anal. Ber. für $C_8H_{14}O_8S_2$ (302,3): C, 31,78; H, 4,66; S, 21,21. Gef.: C, 31,86; H, 4,67; S, 21,26.

(b) Zu einer Lösung von 4,94 g Verbindung 3 (0,01 Mol) in 160 ml Methanol wird eine Lösung von 1,13 g Natriummethylat in 15 ml Methanol (0,021 Mol) unter Kühlung zugefügt. Nach 3 Stdn. wird die ausgeschiedene Kristallmasse abgesaugt und mit Wasser gewaschen, Ausbeute 2,9 g (95%), Schmp. 129–130°.

(c) 2,3:4,5-Dianhydro-L-iditol⁸ (0,235 g) wird in 1,2 ml Pyridin bei –15° mit 0,402 g (2 Mol äquivalent) Methylsulfonylchlorid versetzt und das Reaktionsgemisch bei 20° 4 Stdn. aufbewahrt, dann unter 0° mit 30 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gemischt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Aceton umkristallisiert; Schmp. 129–130°, $[\alpha]_D^{20} -64,1^\circ$ (*c* 1,0, Aceton). Mischmelzpunkt mit dem obigen Präparat unverändert.

2,3:4,5-Dianhydro-1,6-di-O-(methylsulfonyl)-D-iditol. — Die Verbindung wurde analog des L-Iditol-Derivates 4 aus 3,4-*O*-Isopropyliden-L-mannitol⁹ über 3,4-*O*-Isopropyliden-1,2,5,6-tetra-*O*-(methylsulfonyl)- und 1,2,5,6-Tetra-*O*-(methylsulfonyl)-L-mannitol dargestellt; Schmp. 129–130°, $[\alpha]_D^{25} +63,4^\circ$ (*c* 1, Aceton).

Anal. Ber. für $C_8H_{14}O_8S_2$ (302,3): C, 31,78; H, 4,66; S, 21,21. Gef.: C, 31,91; H, 4,64; S, 21,12.

Die Verbindung wurde auch aus 2,3:4,5-Dianhydro-D-iditol⁷ ebenso wie das entsprechende L-iditol-Derivat 4 gewonnen.

Dichlordidesoxy-1,6-di-O-(methylsulfonyl)hexitol. — Verbindung 4 (6 g) wird

in 14 ml conc. Salzsäure auf 60° erwärmt. Die Substanz löst sich innerhalb einiger Minuten, hierauf erfolgt eine reichliche Kristallausscheidung. Nach 2 Stdn. wird das abgekühlte Gemisch abgesaugt, die Nutschorte mit Wasser und mit wenig 2-Propanol gewaschen. Das Rohprodukt (6,1 g, 81%) wird aus Äthanol umgelöst, Schmp. 107–108°, $[\alpha]_D^{20} -4,4^\circ$ (*c* 1,0, Aceton). Die Verbindung wird durch Perjodsäure nicht oxidiert.

Anal. Ber. für $C_8H_{16}Cl_2O_8S_2$ (375): C, 25,59; H, 4,29; Cl, 18,89; S, 17,08. Gef.: C, 25,60; H, 4,20; Cl, 18,70; S, 17,00.

Dibromdidesoxy-1,6-di-O-(methylsulfonyl)hexitol. — Verbindung 4 wird in 7,5 ml 48% Bromwasserstoffsäure auf 60° erwärmt. Nach baldigem Lösen des Ausgangsmaterials wird die ausgeschiedene Krystallmasse nach 5 Stdn. abfiltriert, mit Wasser und 2-Propanol gewaschen und aus 2-Propanol umgelöst; Ausbeute 1,3 g, Schmp. 165–166°, $[\alpha]_D^{20} -39,8^\circ$ (*c* 1,0, Aceton). Die Verbindung verbraucht kein Perjodat.

Anal. Ber. für $C_8H_{16}Br_2O_8S_2$ (464): C, 20,72; H, 3,45; Br, 34,55; S, 13,80. Gef.: C, 21,00; H, 3,40; Br, 34,20; S, 13,90.

*1,3,4,6-Tetradesoxy-L-threo-hexitol*⁶ (5). — Eine Lösung von 3 g (0,01 Mol) Verbindung 4 in 200 ml Dioxan wird mit 1,14 g (0,03 Mol) Lithiumaluminiumhydrid zunächst 1 Std. bei 80°, dann 16 Stdn. zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von 1,14 g Lithiumaluminiumhydrid wird das Reaktionsgemisch wieder 16 Stdn. unter Rückfluß gekocht, nach Abkühlen mit Äthylacetat, Methanol und schließlich mit Wasser versetzt, filtriert und mit 200 ml Äther nachgewaschen. Das Filtrat schüttelt man mit 10% Natriumcarbonat-Lösung und mit Wasser aus und dampft in Vak. nach Trocknen ein. Die Substanz kristallisiert aus wenig abs. Äther bei Abkühlen in Nadeln aus; Ausbeute 0,42 g (36%), Schmp. 52–53°, $[\alpha]_D^{20} +34,6^\circ$ (*c* 1,0, Chloroform).

Anal. Ber. für $C_6H_{14}O_2$ (118,2): C, 61,0; H, 11,9. Gef.: C, 61,1; H, 12,0.

2,3,4,5-Dianhydro-1,6-di-O-p-tolylsulfonyl-L-iditol. — 1,2,5,6-Tetra-*O-p*-tolylsulfonyl-D-mannitol¹⁰ (16 g, 0,02 Mol) wird in 100 ml Aceton unter Rühren bei 15–20° allmählich mit 42 ml *m*-Natronlauge (0,042 Mol) versetzt. Nach einer Std. verdünnt man das Reaktionsgemisch mit 130 ml Wasser, saugt das ausgefallene kristalline Produkt ab und löst es aus Aceton nach Waschen mit Wasser um; Ausbeute 8 g (90%), Schmp. 126–127°, $[\alpha]_D^{20} -60,8^\circ$ (*c* 1,0, Aceton). Die Verbindung ist in Wasser und Chloroform schwer löslich.

Anal. Ber. für $C_{20}H_{22}O_8S_2$ (454,5): C, 52,84; H, 4,85; S, 14,17. Gef.: C, 52,53; H, 5,00; S, 14,00.

LITERATUR

- 1 J. KUSZMANN UND L. VARGHA, *Acta Chim. Hung.*, in Druck.
- 2 T. HORVÁTH UND L. VARGHA, *V. Ung. Krebsstagung, Budapest, 1961, Ung. Akad. Wiss.*, (1962) 141; *Acta Un. Int. Contra Cancer*, 20 (1964) 71.
- 3 G. KENDREY, J. BALÓ, J. JUHÁSZ, G. GYENES UND M. SELLYEI, *Acta Un. Intern. Contra Cancer*, 20 (1964) 141; *Orv. Hetilap.*, 103 (1962) 257.
- 4 J. SZENTKLÁRAY UND C. SELLEI, *Neoplasma*, 14 (1967) 83.

- 5 L. F. WIGGINS, *J. Chem. Soc.*, (1946) 13.
- 6 K. SERCK-HANSEN, S. STÄLLBERG-STENHAGEN UND E. STENHAGEN, *Ark. Kemi*, 5 (1953) 213.
- 7 R. S. TIPSON UND A. COHEN, *Carbohyd. Res.*, 7 (1968) 240.
- 8 L. A. ELSON, M. JARMAN UND W. C. J. ROSS, *Eur. J. Cancer*, 4 (1968) 617; M. JARMAN UND W. C. J. ROSS, *Carbohyd. Res.*, 9 (1969) 139.
- 9 E. BAYER UND H. O. L. FISCHER, *J. Biol. Chem.*, 128 (1939) 463.
- 10 P. KARRER UND P. C. DAVIS, *Helv. Chim. Acta*, 31 (1948) 1611.
- 11 E. CSÁNYI UND M. HALÁSZ, *Eur. J. Cancer*, in Druck.
- 12 L. VARGHA, Ö. FEHÉR, T. HORVÁTH, L. TOLDY UND J. KUSZMANN, *Acta Chim. Hung.*, 25 (1960) 25.
- 13 Siehe 12 und L. VARGHA, L. TOLDY UND E. KASZTREINER, *Acta Chim. Hung.*, 18 (1959) 295.

Carbohyd. Res., 16 (1971) 253–259