

ACYLIERUNG VON NUCLEOSIDEN IN WÄSSRIGEN LÖSUNGEN.

Nikolenko L.N., Nesawibatko W.N.,

Usatij A.F., Semjenowa M.N.

KURTSCHATOW - INSTITUT FÜR ATOMENERGIE, Moskau, UdSSR.

(Received in Germany 28 October 1970; received in UK for publication 23 November 1970)

Vor kurzem berichteten wir, dass die Benzoylierung von Nucleotiden und Nucleosiden mit Benzoesäureanhydrid(I) nicht nur in absolutem Medium, sondern auch in wasserhaltigen Lösungsmitteln mit guten Ausbeuten verläuft¹. So entstehen aus Adenosin(A) und I im wässrigen Dioxan, Aceton, Äthanol u.a. hauptsächlich Monobenzoyl-A(2) und Dibenzoyl-A(3). Da 2'-Desoxyadenosin unter diesen Bedingungen praktisch unverändert bleibt, haben wir vermutet, dass die cis-Glykol- und nicht die NH₂-Gruppe von Adenin oder 5'-Hydroxyl in die Reaktion eingezogen wird. Tatsächlich werden 2 und 3 nicht von Perjodat entwickelt und ihre UV-Spektren enthalten die für A charakteristische Absorptionsbande $\lambda_{\text{max}}=260$ nm. Die endgültige Strukturaufklärung wurde nach Fromageot et al². durch NMR-Spektroskopie durchgeführt. Das NMR-Spektrum der Lösung von 2 in Dimethylsulfoxid weist zwei Dubletten gleicher Intensität bei $\tau=3,82$ und $3,99$ auf, die dem Proton H/I/zuzuordnen sind. Also ist 2 ein äquimolares Gemisch von 2'- und 3'-O-Benzoyl-A.

3 wurde zur Strukturaufklärung mit Tritylchlorid umgesetzt und mit NaOH in Äthanol debenzoyliert. Dabei wurden chromatographisch und UV-spektrophotometrisch nur 5'-O-Trityl- und N, 5'-O-Ditrityl-A nachgewiesen, was eindeutig für das 2; 3'-Di-O-benzoyl-A spricht.

Uridin(U) reagiert mit I analog A.

So weit uns bekannt ist, gibt es bis jetzt keine brauchbare Methode für die Trennung von 2'- und 3'-O-Acylisomeren. Wir haben gefunden, dass ein Gemisch von iso-Propylacetat(PA)-Di-iso-propyläther(DPA)-iso-Propanol(Pr) als Laufmittel für die chromatographische Trennung der Isomeren auf Kieselgel verwendet werden kann. Das auf diese Weise isolierte 3'-O-Benzoyluridin liefert bei der Umsetzung mit Methansulfonylchlorid und nachfolgender Behandlung mit der gesättigten methano-

lischen Ammoniaklösung zwei Produkte, die nach ihren UV-Spektren 5'-O-Mesyl-2, 2'-anhydro-U und 5'-O-Mesyl-iso-cytosin-arabinosid sind³. Damit ist die angenommene Struktur eindeutig bestätigt.

Bei der Untersuchung von Circular dichroismusspektren (CD) fanden wir, dass die Benzoylierung zu neuen optisch aktiven Absorptionsbanden im Bereich 230 und 260 nm führt (Abb.1). Die Spektren von allen möglichen Mono-O-benzoyl-A und -U unterscheiden sich beträchtlich voneinander. Das lässt CD zur qualitativen und quantitativen Analyse von 2'-, 3'- und 5'-Acylisomeren und Gemischen von diesen ausnutzen. Ausserdem eröffnet sich die Möglichkeit für direkte Verfolgung der Isomerisierung von reinen 2'- und 3'-Acylderivaten bei der Änderung $\Delta\epsilon_{230}$. Die kinetische Messung der Reaktion $2'\text{-O-BzU} \rightleftharpoons 2'\text{-O-BzU} + 3'\text{-O-BzU}$ in der gesättigten NaHCO_3 -Lösung (Äthanol-Wasser, 7:1) zeigte, dass das Gleichgewicht sich in ersten 5-7 Min einstellt (Abb.2). Die 3'-Isomeren dagegen sind weitgehend stabil unter diesen Bedingungen.

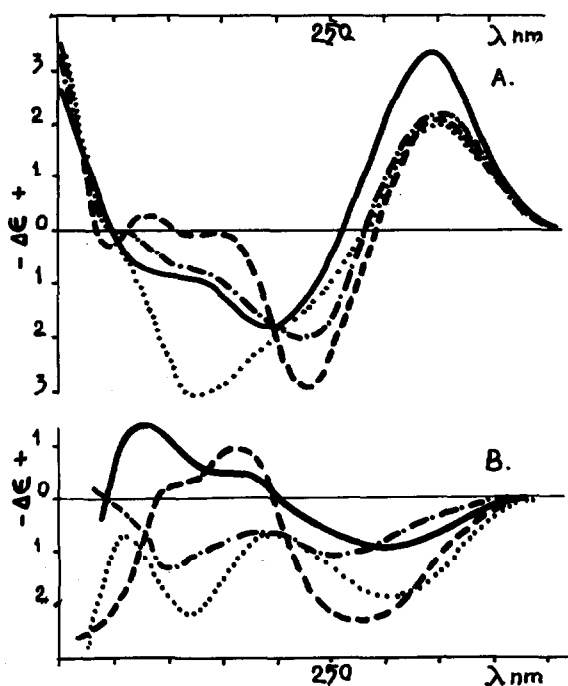


Abb.1. CD-Spektren: A.— U; — — 2'-; ... 3'-; -.- 5'-O-BzU. B.— A; — — 2'-; ... 3'-; -.- 5'-O-BzA.

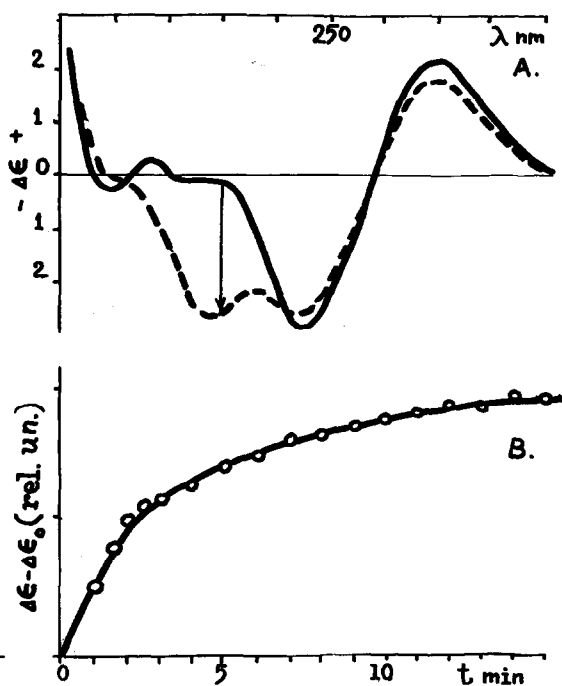


Abb.2.: A.— 2'-O-BzU; — — Gleichgewichtsgemisch von 2'- und 3'-BzU (nach 20 Min). B. Gleichgewichtseinstellung.

Beschreibung der Versuche.

Für die Dünnschichtchromatographie wurde Kieselgel Woelm DC mit Zusatz von Leuchtstoff "Grün" und für Säulenfüllung Kieselgel Woelm für die Verteilungschromatographie benutzt. Die cis-Glykolgruppe wurde mit 0,5 % NaJO_4 in Wasser und 5 % Dianisidin in Äthylacetat-Äthanol sichtbar gemacht. Spektren wurden registriert : UV auf Spektrophotometer Perkin-Elmer 402, NMR auf Spektrometer NA-100 D von Varian und CD auf Spektropolarimeter Cary-60 mit CD-6001.

1,6 g(6 mmol) A und 2,75 g(15 mmol) Tributylamin in 180 ml einer Mischung von Äthanol und Wasser (7:1) wurden auf $+3^\circ\text{C}$ abgekühlt und pH auf 8,0 mit CO_2 -Strom herabgesetzt. Zu dieser Lösung wurde 6,78 g(30 mmol) I zugefügt, weitere 2 Stunden unter Kühlung gerührt und dann bei Zimmertemperatur über Nacht stehen gelassen. Nach dem Eindampfen im Vakuum und Extrahieren mit Hexan enthält der Rückstand nur noch A, 2 und 3 im Verhältnis 2:2:1 (Spektrophotometrisch). Durch die Trennung auf Kieselgelsäule mit Äthylacetat-Äthanol (10:1) erhielten wir: 3 Schmp. $207-208^\circ$, UV(96% Äthanol) $\lambda_{\text{max}}=260 \text{ nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}=16700$), 232 nm ($\epsilon_{\text{max}}=27000$). Analyse:ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ C 58,4 %, H 4,67%, N 14,2%, gef. C 59,3%, H 4,82 %, N 14,3 %; und 2,, Schmp. $168-169^\circ\text{C}$, UV(96% Äthanol) $\lambda_{\text{max}}=260 \text{ nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}=15500$), 232 nm ($\epsilon_{\text{max}}=15100$), Analyse:ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5$ N 18,8, gef. N 18,7 %.

Die Trennung von 2'- und 3'-O-Benzoylisomeren wurde auf Kieselgelschicht (Woelm DC) erreicht, Laufmittel für A PA-DPA-Pr (10:5:3), für U PA-DPA-Pr(10:5:1) Der schneller laufende Stoff ist 3'-O-Benzoylisomer.

LITERATUR :

1. Nikolenko L.N., Jahresberichte des Kurtschatow-Instituts für Atomenergie, Abteilung B10, Moskau, 1970.
2. Fromageot H.P.M., Griffin B.E., Sulston J.E., Trentham D.R., Tetrahedron (1966), 22, 705.
3. Reese C.B., Trentham D.R., Tetrahedron Letters, 1965, 2459.