

NUCLEOSIDE VON FLUOR-ZUCKERN

TEIL III*. SYNTHESE 5'-FLUORSUBSTITUIERTER DESOXYRIBONUCLEOSIDE

G. KOWOLLIK, K. GAERTNER, G. ETZOLD, UND P. LANGEN

Institut für Biochemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Buch (D. D. R.)
(Eingegangen den 24. Juli 1969)

ABSTRACT

2',5'-Dideoxy-5'-fluororibonucleosides are conveniently obtained by treatment of the corresponding 5'-*O*-tosyl[†] derivatives with an excess of tetrabutylammonium fluoride in *N,N*-dimethylformamide at 50°. The p.m.r. spectra of the fluoro derivatives establish unequivocally their structure. Surprisingly, treatment of 3',5'-di-*O*-mesylthymidine[‡] with potassium fluoride or with tetrabutylammonium fluoride gave mesylanhydrothymidines rather than fluorine-containing products. Under similar conditions, 5'-deoxy-5'-iodothymidine was converted mainly into 4',5'-unsaturated 5'-deoxythymidine.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird gezeigt, daß 2',5'-Dideoxy-5'-fluorribonucleoside in einfacher Weise aus den entsprechenden 5'-*O*-tosylierten Derivaten durch Umsatz mit Tetrabutylammoniumfluorid in *N,N*-Dimethylformamid bei 50° erhalten werden. Die p.m.r.-Spektren der Fluor-Derivate erweisen einwandfrei deren Struktur. Überraschenderweise bildet 3',5'-Di-*O*-mesylthymidin mit Kaliumfluorid oder mit Tetrabutylammoniumfluorid kein fluorhaltiges Produkt, sondern mesylierte Anhydrothymidine. Aus 5'-Desoxy-5'-jodthymidin entsteht unter ähnlichen Bedingungen vorwiegend 5'-Desoxy-4',5'-didehydrothymidin.

EINLEITUNG

Wie wir kürzlich zeigen konnten, ist 5'-Desoxy-5'-fluorthymidin (2) ein Inhibitor-Analoges von Thymidin-5'-monophosphat bei der Thymidin-5'-monophosphat-Kinase-Reaktion und hemmt daher selektiv die Desoxyribonucleinsäure-Synthese². Dieser Befund veranlaßte uns, nach allgemeinen anwendbaren Verfahren für die Darstellung von weiteren im Zuckerteil fluor-substituierten 2'-Desoxyribonucleosiden zu suchen und die erhaltenen Verbindungen in der angegebenen Richtung biochemisch zu testen.

*Teil II, Ref. 1.

[†]Tosyl = *p*-toluenesulfonyl.

[‡]Mesyl = methanesulfonyl.

Im Zuckerteil fluor-substituierte Pyrimidin- und Purin-Nucleoside der Ribose und der Arabinose sind durch Spaltung geeigneter Nucleosid-Derivate mit wasserfreiem Fluorwasserstoff³ oder durch Kondensation von Pyrimidin- und Purin-Basen mit dem entsprechenden Fluor-Zucker⁴ erhalten worden. Analoge Fluor-Nucleoside der 2-Desoxy-D-*erythro*-pentose waren bisher nicht bekannt. Zur Darstellung primärer Fluor-Derivate von Desoxyribonucleosiden haben wir die nucleophile Substitution von *p*-Tosyloxy-Gruppen durch Fluor in einer Reihe von 5'-*O*-Tosyl-desoxyribonucleosiden eingehend untersucht. Über Versuche zur Einführung von Fluor am C-3' von Desoxyribonucleosiden zwecks Darstellung sekundärer Fluor-Derivate wird in Kürze berichtet^{1,5}.

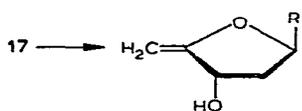
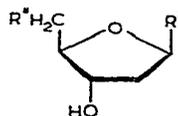
ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ausgangsprodukte waren die entsprechenden 5'-*O* tosylierten Desoxyribonucleoside: 5'-*O*-Tosylthymidin (1)⁶, 2'-Desoxy-5'-*O*-tosyl-5-fluoruridin (5)⁷, 2'-Desoxy-5'-*O*-tosyladenosin (9)⁸ und das bisher unbekannte 2'-Desoxy-5'-*O*-tosyluridin (3). Sie wurden durch Umsetzung des entsprechenden Nucleosids mit Tosylchlorid in Pyridin gewonnen. 2'-Desoxy-5'-*O*-tosylcytidin (7)⁹⁻¹¹ ließ sich auf diesem direkten Weg jedoch nur in ca. 12-proz. Ausbeute aus 2'-Desoxycytidin gewinnen. Dagegen konnte *N*-Acetyl-2'-desoxycytidin¹² mit Tosylchlorid in Pyridin bei Raumtemperatur leicht in *N*-Acetyl-2'-desoxy-5'-*O*-tosylcytidin (11) übergeführt werden. Wir bevorzugten daher diese Verbindung zur Darstellung von 2',5'-Didesoxy-5'-fluorcytidin (8). Sowohl 2'-Desoxy-5'-*O*-tosylcytidin (7) als auch *N*-Acetyl-2'-desoxy-5'-*O*-tosylcytidin gehen mit überschüssigem Acetanhydrid in kristallines *N*,3'-*O*-Diacetyl-2'-desoxy-5'-*O*-tosylcytidin über, eine Substanz, die bisher nur als "solid foam" beschrieben¹⁰ ist.

Zur Überführung der Tosyl- in die entsprechenden Fluor-Nucleoside verwendeten wir zunächst Kaliumfluorid. So konnte 5'-Desoxy-5'-fluorthymidin (2) erstmals durch kurzzeitiges Erhitzen von 5'-*O*-Tosylthymidin (1) mit Kaliumfluorid-dihydrat in Methanol auf 150° gewonnen werden². Es war nicht überraschend, daß unter diesen überwiegend S_N1-Bedingungen durch Einbeziehung des Lösungsmittels in die Reaktion Nebenprodukte entstanden, wodurch eine verhältnismäßig geringe Ausbeute (16%) an 5'-Desoxy-5'-fluorthymidin (2) resultierte. Auch in aprotischen Lösungsmitteln (z.B. mit wasserfreiem Kaliumfluorid in Acetamid), erhielten wir unbefriedigende Ergebnisse. Das veranlaßte uns, das von Foster, Hems, *et al.*¹³ zur Darstellung primärer und insbesondere sekundärer Fluor-Kohlenhydrate eingeführte Tetrabutylammoniumfluorid auf seine Verwendbarkeit zur Einführung von Fluor in Nucleoside zu prüfen. Tetrabutylammoniumfluorid ist in aprotischen Lösungsmitteln gut löslich und gestattet damit Fluor unter überwiegend S_N2-Bedingungen einzuführen.

Mittels Tetrabutylammoniumfluorid konnten wir alle vorher genannten 5'-*O*-Tosyl-desoxyribonucleoside (1, 3, 5, 7, 9) mit teilweise guten Ausbeuten in die entsprechenden 5'-Desoxy-5'-fluor-Derivate (2, 4, 6, 8, 10) überführen.

- 1 R' = 1-(Thyminy); R'' = TsO
- 2 R' = 1-(Thyminy); R'' = F
- 3 R' = 1-(Uracily); R'' = TsO
- 4 R' = 1-(Uracily); R'' = F
- 5 R' = 1-(5-Fluoruracily); R'' = TsO
- 6 R' = 1-(5-Fluoruracily); R'' = F
- 7 R' = 1-(Cytidiny); R'' = TsO
- 8 R' = 1-(Cytidiny); R'' = F
- 9 R' = 9-(Adeniny); R'' = TsO
- 10 R' = 9-(Adeniny); R'' = F
- 11 R' = 1-(*N*-Acetylcytidiny); R'' = TsO
- 17 R' = 1-(Thyminy); R'' = I
- 18 R' = 1-(Thyminy)



18

Allgemein erwiesen sich die folgenden Bedingungen als besonders geeignet : *N,N*-Dimethylformamid als Lösungsmittel, Verwendung eines etwa 6M Überschusses an Tetrabutylammoniumfluorid (mit Ausnahme von *N*-Acetyl-2'-desoxy-5'-*O*-tosylcytidin (11), für das ein 50–80M Fluorid-Überschuß zur Erzielung einer guten Ausbeute erforderlich ist), Reaktionstemperatur 50°. Nach Abdestillieren des *N,N*-Dimethylformamids wurde in Wasser gelöst und das überschüssige Tetrabutylammoniumfluorid durch kombinierte H⁺-Ionenaustauscher–Calciumcarbonat-Behandlung entfernt. Die Fluor-Nucleoside wurden durch Säulenchromatographie isoliert. Durch Jodieren von 2',5'-Didesoxy-5'-fluoruridin (4) nach der Methode von Prusoff¹⁴ erhielten wir außerdem 2',5'-Didesoxy-5'-fluor-5'-joduridin.

Außer durch die üblichen physikalischen Daten und durch Elementaranalyse wurden die 2',5'-Didesoxy-5'-fluorribonucleoside durch p.m.r.-Spektren charakterisiert. Wesentliche Werte der chemischen Verschiebungen sind in Tabelle I zusammengestellt. Die Kopplungseffekte des Fluors mit den H-5'-Protonen und dem H-4'-Proton erweisen zweifelsfrei die Struktur der Verbindungen. In allen Spektren überlagert sich die eine Hälfte der aufgespaltenen Signale für die H-5'-Protonen und für das H-4'-Proton zum Teil mit den Signalen von H-3', so daß ein breites Multiplett bei etwa τ 5,70 resultiert. Weitere Signale erscheinen für ein H-5', als Duplett bei etwa τ 4,95 und für 0,5 H-4' als Quadruplett bei τ 6,0–6,2. Die Lage der übrigen Signale ist gegenüber den unsubstituierten Nucleosiden nahezu unverändert.

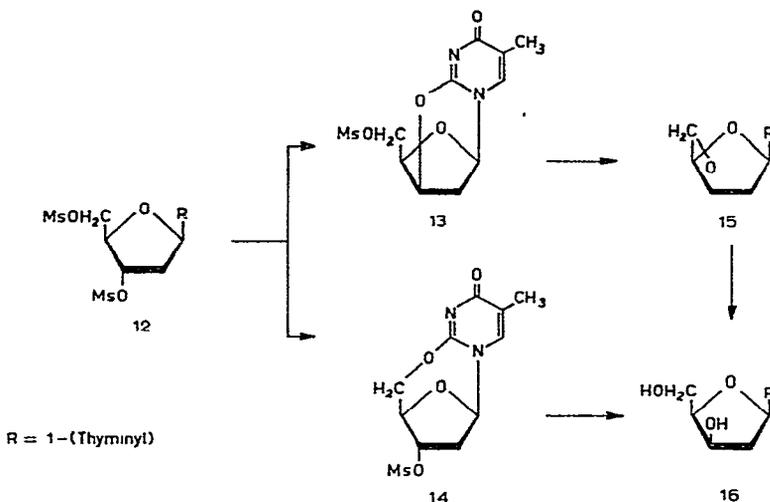
In der Absicht, selektiv die primäre Mesyloxy-Gruppe in 3',5'-Di-*O*-mesylthymidin (12)¹⁵ durch Fluor zu substituieren, bezogen wir auch diese Verbindung in unsere Untersuchungen ein. Überraschenderweise konnten wir jedoch weder beim Umsatz mit Tetrabutylammoniumfluorid noch mit Kaliumfluorid die Bildung eines fluorhaltigen Produktes nachweisen. Dagegen entstanden z. B. mit Kaliumfluorid in Dimethylsulfoxid bei 90° 2,3'-Anhydro-1-(2'-desoxy-5'-*O*-mesyl- β -D-*threo*-pentofuranosyl)thymidin^{15–17} (13) und 2,5'-Anhydro-1-(2'-desoxy-3'-*O*-mesyl- β -D-*erythro*-pentofuranosyl)thymidin¹⁸ (14) im Verhältnis 2:1. Diese Verbindungen reagieren mit Natronlauge zu charakteristischen Folgeprodukten: 13 geht quantitativ in 1-(3',5'-Anhydro-2'-desoxy- β -D-*threo*-pentofuranosyl)thymidin (15), 14 zu 90% in 1-(2'-

TABELLE 1
CHEMISCHE VERSCHIEBUNGEN IN τ (P.P.M.) UND H,F-KOPPLUNGSKONSTANTEN (C.P.S.) VON 2',5'-DIDESOXY-5'-FLUORRIBONUCLEOSIDEN^a

Verbindung	H-1'	2 (H-2')	1 (H-5') + H-3' + 0,5 (H-4')	0,5 (H-4')	1 (H-5')	NH	NH ₂	J _{H-5',F}	J _{H-1',F}
5'-Desoxy-5'-fluor-thymidin (2) ^b	3,76 (t)	7,70-8,02 (m)	5,55-6,05 (m)	6,23 (q)	4,98 (d)	-1,28	—	48,5	25
2',5'-Didesoxy-5'-fluor-uridin (4) ^b	3,77 (t)	7,65-8,02 (m)	5,60-6,00 (m)	6,25 (q)	4,99 (d)	-0,33 bis -1,67	—	47,5	25
2',5'-Didesoxy-5',5'-difluor-uridin (6) ^b	3,81 ^c (t)	7,67-7,92 (m)	5,60-5,93 (m)	6,22 (q)	4,98 (d)	-0,33 bis -1,25	—	48	25
2',5'-Didesoxy-5'-fluor-cytidin (8) ^d	3,55 ^c (t)	7,47-7,81 (m)	5,40-5,73 (m)	5,97 (q)	4,96	—	2,57 (s)	47	25
2',5'-Didesoxy-5'-fluor-adenosin (10) ^b	3,54 (t)	7,00 (m)	5,23-5,87 (m)	6,05 (q)	4,95 (d)	—	2,70 (s)	47,5	23

^as = Singulett; d = Duplett; t = Triplett; q = Quadruplett; m = Multipllett. ^bGemessen mit einem Gerät Varian A-60 in Dimethylsulfoxid-d₆ und Tetramethylsilan als internem Standard. ^cMit Unteraufspaltungen. ^dGemessen mit einem Gerät Varian HA-100 in Dimethylsulfoxid-d₆ mit Hexamethyl-disiloxan als externem Standard.

Desoxy- β -D-xylofuranosyl)thymidin (**16**) über. Dementsprechend entstehen — bedingt durch das alkalische Reaktionsmilieu — ausschließlich diese Folgeprodukte bei der Umsetzung von **12** mit Kaliumfluoriddihydrat in Methanol aus primär gebildetem **13** und **14**.



Bei der Umsetzung von 5'-Desoxy-5'-jodthymidin (**17**) mit Kaliumfluorid oder mit Tetrabutylammoniumfluorid wurde unter allen geprüften Bedingungen überwiegend 4',5'-Didehydro-5'-desoxythymidin (**18**) erhalten. Die optimalen Bedingungen für diese Reaktion, die dem bekannten Silberfluorid-Pyridin-Verfahren¹⁹ zur Darstellung ungesättigter Kohlenhydrat-Derivate mit exocyclischer Doppelbindung analog ist, haben wir jedoch nicht untersucht.

Über die biochemischen Wirkqualitäten einiger der dargestellten Verbindungen wird an anderer Stelle berichtet.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeines. — Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach Boëtius (korr. Werte) bestimmt, u.v. Spektren mit dem selbstregistrierenden Spektralphotometer Beckman DK-2 aufgenommen. Die folgenden Fließmittel wurden für die Säulen- und Dünnschichtchromatographie benutzt: (A) 12:1:6 Essigsäureäthylester-2-Propanol-Wasser; (B) 8:2 Chloroform-Äthanol; (C) 9:1 Chloroform-Äthanol; und (D) wassergesättigter Butylalkohol. Die Dünnschichtchromatographie verlief aufsteigend auf Kieselgel HF₂₅₄ (E. Merck, Darmstadt). Die Substanzen wurden im u.v. Licht durch Fluoreszenzlöschung und nach Besprühen mit Schwefelsäure lokalisiert. Zur Säulenchromatographie wurden verwendet: Kurzsäulen mit „Kieselgel G (oder H) zur Dünnschichtchromatographie“ (E. Merck, Darmstadt). Methodik: Füllung einer Glassäule der Abmessung 45 × 250 mm mit 100 g Adsorbens durch Einschlämmen und Absetzenlassen mit dem jeweiligen Fließmittel, Betrieb

der Säule unter geringem Überdruck. Normale Säulen mit Celite (Hyflo-Super-Cel, Johns-Manville Co.) (zur Methodik siehe Lit.²⁰) oder mit "Kieselgel zur Säulenchromatographie" (E. Merck, Darmstadt); der Verlauf der säulenchromatographischen Trennungen wurde mit Hilfe des u.v. Durchflußphotometers LKB Uvicord Typ 8301 A bei 254 nm registriert und/oder dünnschichtchromatographisch verfolgt. Die Elementaranalysen wurden nach mehrstündigem Trocknen der Substanzen *in vacuo* über Phosphorpentoxid mit dem Perkin-Elmer 240 Elemental Analyzer angefertigt.

5'-Desoxy-5'-fluorthymidin (2). — Eine Lösung von *5'-O-Tosylthymidin (1)* (4 g, 10 mmol) und Tetrabutylammoniumfluorid (15 g, 57,5 mmol) in *N,N*-Dimethylformamid (100 ml) wird während 24 Std. auf 50° erhitzt. Danach wird das *N,N*-Dimethylformamid abdestilliert und der ölige Rückstand (18 g) in Wasser (500 ml) gelöst. Die wässrige Lösung gibt man auf eine mit Dowex-50W X-8, (50–100 mesh, H⁺, 40 ml) gefüllte Säule und eluiert mit Wasser, bis im Eluat keine u.v. Absorption mehr nachweisbar ist. Das fluorwasserstoffsäure Eluat läßt man in eine intensiv gerührte Calciumcarbonat-Suspension (10 g in ca. 50 ml Wasser) eintropfen. Nach Absaugen und Einengen *in vacuo* wird der Rückstand (5,3 g) in der unteren (wässrigen) Phase des Fließmittels (*A*) gelöst (9 ml), mit Celite (25 g) gleichmäßig verrührt und an einer Celite-Säule (400 g) mit der oberen (organischen) Phase des Fließmittels (*A*) chromatographiert. Man erhält ein angereichertes Produkt (1,4 g), das nach der Chromatographie an einer Kieselgel-Säule (250 g) mit Fließmittel (*B*) analysenreines **2** (0,60 g, 24,6%) vom Schmp. 201–203° ergibt (Lit.²: Schmp. 203–205°).

2'-Desoxy-5'-O-tosyluridin (3). — Zu einer Lösung von *2'-Desoxyuridin* (5 g, 22 mmol) in trockenem Pyridin (4,5 ml) wird bei 0° unter Rühren eine Lösung von Tosylchlorid (5 g, 26,2 mmol) in Pyridin (4,5 ml) getropft. Man beläßt 16 Std. bei 0° und gießt danach in Eiswasser (250 ml). Die wässrige Lösung extrahiert man mit Chloroform (3 × 100 ml) und wäscht die vereinigten Chloroform-Extrakte nacheinander mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit Wasser. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat wird *in vacuo* zur Trockne eingengt und zum Rückstand mehrfach absol. Äthanol zugesetzt und *in vacuo* wieder abdestilliert. Der verbleibende Rückstand wird aus 90% Äthanol umkristallisiert und ergibt **3** (4,76 g, 57%). Ein analysenreines Produkt wird durch weiteres Umkristallisieren aus 96% Äthanol unter Zusatz von wenig Aktivkohle erhalten. Schmp. 160–162° (Zers.); u.v. Spektrum (Methanol): λ_{\max} 262 (ε 11,700) und 223 nm (ε 18,000); λ_{\min} 241 nm (ε 5850).

Anal. Ber. für C₁₆H₁₈N₂O₇S (382,39) : C, 50,25; H, 4,74; N, 7,33. Gef. : C, 50,56; H, 4,60; N, 7,60.

2',5'-Didesoxy-5'-fluoruridin (4). — Ein Gemisch aus **3** (3,82 g, 10 mmol), Tetrabutylammoniumfluorid (15 g, 57,5 mmol) und *N,N*-Dimethylformamid (100 ml) wird während 24 Std. auf 50° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgt analog der von **2**. Man erhält **4** (0,55 g, 24%) nach chromatographischer Reinigung an einer Celite-Säule (800 g) mit Fließmittel (*A*) durch Kristallisation aus Aceton-Petroläther; Schmp. 158,5–159,5°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +25,3^{\circ}$ (*c* 1,46, Wasser); u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{\max} 262 nm (ε 10,350); λ_{\min} 230 nm (ε 2320).

Anal. Ber. für $C_9H_{11}FN_2O_4$ (230,19) : C, 46,96; H, 4,82; F, 8,25; N, 12,17. Gef. : C, 47,31; H, 4,98; F, 8,70; N, 12,20.

Das 3'-O-Acetyl-Derivat wurde durch Kristallisation aus Aceton erhalten, Schmp. 190–193°.

Anal. Ber. für $C_{11}H_{13}FN_2O_5$ (272,23) : C, 48,53; H, 4,81; N, 10,29. Gef. : C, 48,50; H, 4,53; N, 10,02.

2',5'-Didesoxy-5'-fluor-5-joduridin. — 4 (0,1 g) wird mit Jod (0,1 g) in Chloroform (1 ml) und m Salpetersäure (2 ml) während 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Es scheiden sich Kristalle ab, die abgesaugt und mit Wasser und Äther gewaschen werden (55 mg, 36%). Nach Umkristallisieren aus Wasser werden farblose Nadeln erhalten, die sich oberhalb 190° allmählich zersetzen; u.v. Spektrum (Wasser) : λ_{\max} 285 nm (ϵ 8700), λ_{\min} 247 nm (ϵ 3000).

Anal. Ber. für $C_9H_{10}FJN_2O_4$ (356,10) : C, 30,36; H, 2,83; N, 7,87. Gef. : C, 30,65; H, 2,72; N, 7,85.

2',5'-Didesoxy-5,5'-difluoruridin (6). — Ein Gemisch aus 5 (2 g, 5 mmol), Tetrabutylammoniumfluorid (8 g, 30,6 mmol) und *N,N*-Dimethylformamid (50 ml) wird während 90 Min. auf 50° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgt analog der von 2. Nach chromatographischer Reinigung an einer Kurzsäule (Kieselgel G) mit Fließmittel (C) erhält man durch Kristallisation aus Äthanol 6 (1,15 g, 92,5%), Schmp. 184°; $[\alpha]_D^{23} + 14,3^\circ$ (c 1,48, Wasser); u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{\max} 268 nm (ϵ 10,250), λ_{\min} 236 nm (ϵ 3640).

Anal. Ber. für $C_9H_{10}F_2N_2O_4$ (248,19) : C, 43,56; H, 4,06; F, 15,25; N, 11,29. Gef. : C, 43,58; H, 4,05; F, 15,31; N, 11,28.

Das 3'-O-Acetyl-Derivat wurde durch Kristallisation aus Aceton–Petroläther erhalten, Schmp. 148–149°.

N-Acetyl-2'-desoxy-5'-O-tosylcytidin (11). — Zu einer Suspension von *N*-Acetyl-2'-desoxycytidin (3 g, 10 mmol) in Pyridin (20 ml) wird unter Rühren bei 0° eine Lösung von Tosylchlorid (5,2 g, 27,4 mmol) in Pyridin (20 ml) zugetropft. Die Eiskühlung wird entfernt und das Gemisch während 4 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Danach tropft man unter Rühren in Eiswasser (300 ml) und extrahiert mit Chloroform (3 × 50 ml). Die vereinigten Chloroform-Extrakte werden nacheinander mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* zur Trockne eingengt. Das Rohprodukt (4,32 g) wird an zwei Kurzsäulen (Kieselgel H) mit Fließmittel (A) gereinigt. Man erhält 11 (2,3 g, 54%) als farblosen Schaum, der beim Stehen in Gegenwart von Äthanol in der Kälte in farblose Prismen vom Schmp. 132–134° (Zers.) übergeht; $[\alpha]_D^{20} + 45,4^\circ$ (c 1,41, Methanol); u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{\max} 213, 248, und 297 nm (ϵ 17,400, 17,450 und 9580), Schulter bei 227 nm, λ_{\min} 239 und 273 nm (ϵ 15,300 und 6350); n.m.r. Spektrum : Singulets bei τ 7,87 (*N*-Acetyl) und bei τ 7,52 (aromatische Me-Gruppe).

Anal. Ber. für $C_{18}H_{21}N_3O_7S$ (423,44) : C, 51,05; H, 5,00; N, 9,92. Gef. : C, 51,45; H, 5,13; N, 9,43.

Das *Pikrat* wurde durch Kristallisation aus 96% Äthanol erhalten, Schmp. 169–171° (Zers.).

Anal. Ber. für $C_{24}H_{24}N_6O_{14}S$ (652,55) : C, 44,17; H, 3,71; N, 12,88. Gef. : C, 43,94; H, 3,90; N, 13,35.

2'-Desoxy-5'-O-tosylcytidin (7). — Zu einer Suspension von 2'-Desoxycytidin (4,5 g, 19,8 mmol) in Pyridin (30 ml) wird bei 0° unter Rühren eine Lösung von Tosylchlorid (6 g, 31,5 mmol) in Pyridin (40 ml) zugetropft. Man beläßt während 24 Stdn. bei 0°. Danach wird die Lösung unter Rühren in Eiswasser (250 ml) getropft und die wässrige Lösung mit Chloroform (3 × 100 ml) extrahiert. Die vereinigten Chloroform-Extrakte werden nacheinander mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird in 5:4:1 Methanol-Chloroform-Wasser (100 ml) gelöst und die Lösung auf eine Säule mit Dowex 50-W X-8 (50–100 mesh, H^+ , 20 ml) gegeben. Mit Methanol wird *N,3'-O*-Di-tosyl-2'-desoxycytidin, danach mit 5M Ammoniak (*ca.* 1 Liter) das mit 2'-Desoxycytidin verunreinigte Hauptprodukt eluiert. Die ammoniakalische Lösung wird *in vacuo* zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mit Eiswasser (2 × 20 ml) verrieben, wobei 2'-Desoxycytidin gelöst und das Hauptprodukt verfestigt wird. Nach Umkristallisieren aus Methanol wird 7 (0,89 g, 11,8%) als farbloses, amorphes Produkt vom Schmp. 145–147° erhalten. Die analysenreine Substanz schmilzt bei 149–152° (Lit.⁹ : 120–123°); $[\alpha]_D^{22} + 45,9^\circ$ (*c* 1,50, Methanol); u.v. Spektrum (Wasser) : λ_{max} 227 und 270 nm (ϵ 20,200 und 9240), λ_{min} 212 und 250 nm (ϵ 16,200 und 6870). N.m.r. Spektrum : Singulett bei τ 7,56 (aromatische Me-Gruppe), breites Singulett bei τ 2,75 (NH_2).

Anal. Ber. für $C_{16}H_{19}N_3O_6S$ (381,40) : C, 50,38; H, 5,02; N, 11,02; S, 8,41. Gef. : C, 50,52; H, 5,05; N, 10,94; S, 8,81.

N,3'-O-Diacetyl-2'-desoxy-5'-O-tosylcytidin. — Diese Verbindung entsteht quantitativ aus 7 oder aus 11 nach Behandlung mit überschüssigem Acetanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur. Das Rohprodukt wurde an einer Kurzsäule (Kieselgel H) mit Fließmittel (A) gereinigt. Nach Stehen über Äther wird aus 96% Äthanol umkristallisiert. Farblose Prismen vom Schmp. 138–141° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} + 38^\circ$ (*c* 1,44, Methanol); u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{max} 214, 248,5 und 297 nm (ϵ 29,900, 18,400 und 9300), Schulter bei 227 nm, λ_{min} 238,5 und 275 nm (ϵ 15,500 und 6370). N.m.r. Spektrum : Singuletts bei τ 7,95 (*O*-Ac), τ 7,86 (*N*-Ac) und τ 7,58 (aromatische Me-Gruppe), breites (schwach aufgespaltenes) Singulett bei τ –0,9 (NH).

Anal. Ber. für $C_{20}H_{23}N_3O_8S$ (465,47) : C, 51,60; H, 4,98; N, 9,03. Gef. : C, 51,45; H, 4,96; N, 8,91.

2',5'-Didesoxy-5'-fluorcytidin (8). — (a) Ein Gemisch aus 7 (0,33 g, 0,87 mmol), Tetrabutylammoniumfluorid (1,3 g, 5 mmol), und *N,N*-Dimethylformamid (9 ml) wird während 24 Stdn. auf 50° erhitzt. Danach wird das *N,N*-Dimethylformamid *in vacuo* abdestilliert und der Rückstand (1,7 g) in Wasser (10 ml) gelöst. Die wässrige Lösung gibt man auf eine Säule mit Dowex-50W X-8 (50–100 mesh, H^+ , 10 ml) und eluiert mit Wasser, bis das Eluat neutral abläuft. Das Eluat wird verworfen. Danach werden mit 15% Ammoniak die nucleosidischen Bestandteile eluiert. Die ammonia-

kalische Lösung wird zur Trockne eingengt und das Substanzgemisch an einer Kurzsäule (Kieselgel H) mit Fließmittel (D) getrennt. Man erhält **8** (0,13 g, 64%), das aus absol. Äthanol umkristallisiert wird und farblose Prismen vom Schmp. 215–220° bildet.

(b) Ein Gemisch aus **11** (0,28 g, 0,66 mmol), Tetrabutylammoniumfluorid (15 g, 57,5 mmol), und *N,N*-Dimethylformamid (15 ml) wird während 20 Stdn. auf 50° erhitzt. Danach wird das *N,N*-Dimethylformamid *in vacuo* abdestilliert. Den Rückstand löst man in Methanol (10 ml) und gibt die methanolische Lösung zu einer wässrigen Calciumcarbonat-Suspension (8 g in 100 ml Wasser). Unter Rühren wird Dowex-50W X-8 (50–100 mesh, H⁺, 40 ml) zugesetzt*. Nach 30 Min. Rühren wird über eine G4-Fritte abgesaugt und die wässrige Lösung *in vacuo* zur Trockne eingengt. Zum Rückstand wird mehrfach absol. Äthanol zugesetzt und *in vacuo* wieder abdestilliert. Man erhält ein rötliches Öl (1,3 g), aus dem durch Chromatographie an einer Kurzsäule (Kieselgel H) mit Fließmittel (B) *N*-Acetyl-2',5'-dideoxy-5'-fluorcytidin (0,15 g, 84%) isoliert wird. Dieses wird durch 20stdg. Stehen in methanolischem Ammoniak (bei 0° halbgesättigt) quantitativ in **8** übergeführt. Nach Abdestillieren des Methanols wird das Rohprodukt aus absol. Äthanol umkristallisiert, Schmp. 210–216° (Zers.); u.v. Spektrum (Wasser) : λ_{\max} 271 nm (ϵ 9780), λ_{\min} 248 nm (ϵ 6170); (0,1M Salzsäure) : λ_{\max} 278,5 nm, λ_{\min} 241 nm.

Anal. Ber. für C₉H₁₂FN₃O₃ (229,21) : C, 47,16; H, 5,27; N, 18,33. Gef. : C, 46,81; H, 5,33; N, 17,01.

Das *Pikrat*. — Zers. P. 204–206°, Äthanol.

Anal. Ber. für C₉H₁₂FN₃O₃·C₆H₃N₃O₇ (458,32) : F, 4,15. Gef. : F, 4,45.

Das *N,3'-O-Diacetyl-Derivat* wurde durch Kristallisation aus absol. Äthanol erhalten. Prismen, Schmp. 186–188,5°; u.v. Spektrum (Wasser) : λ_{\max} 246 und 297 nm (ϵ 16,250 und 9400), λ_{\min} 270,5 nm (ϵ 4480).

Anal. Ber. für C₁₃H₁₆FN₃O₅ (313,28) : C, 49,81; H, 5,15; F, 6,06; N, 13,41. Gef. : C, 50,01; H, 5,45; F, 6,00; N, 13,20.

2',5'-*Dideoxy-5'-fluoradenosin* (**10**). — Ein Gemisch aus **9** (4,4 g, 10,8 mmol), Tetrabutylammoniumfluorid (17,7 g, 66,9 mmol) und *N,N*-Dimethylformamid (110 ml) wird während 48 Stdn. auf 50° erhitzt. Tetrabutylammoniumfluorid wird nach der bei **8**, Verfahren (b), beschriebenen Methode abgetrennt. Der nach Einengen der wässrigen Lösung verbleibende Rückstand (9,2 g) wird an zwei Kurzsäulen (Kieselgel G) mit Fließmittel (B) chromatographiert, wobei **10** (1,98 g, 72,2%) erhalten wird. Das analysenreine Produkt schmilzt bei 215–217° (Zers.) nach Kristallisation aus Methanol; $[\alpha]_D^{23}$ –21,3° (*c* 1,35, Methanol); u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{\max} 258,5 nm (ϵ 15,600), λ_{\min} 227 nm (ϵ 3920).

*Bei Anwendung einer Dowex-Säule werden die 2'-Desoxycytidin-Derivate auf der Säule festgehalten. Man wäscht in diesem Falle mit Wasser, bis das Eluat neutral abläuft und eluiert darauf die nucleosidischen Bestandteile mit 5–10% Ammoniak in bereits entacetylierter Form. Nach Einengen der ammoniakalischen Lösung wird nach Chromatographie an einer Kurzsäule mit Fließmittel (D) **8** erhalten.

Anal. Ber. für $C_{10}H_{12}FN_5O_2$ (253,24) : C, 47,43; H, 4,78; F, 7,50; N, 27,66. Gef. : C, 47,26; H, 4,75; F, 7,45; N, 27,63.

Umsetzung von 3',5'-Di-O-mesylthymidin (12) mit Kaliumfluorid. — Ein Gemisch aus **12** (4 g, 10 mmol), trockenem Kaliumfluorid (2,5 g, 43 mmol) und Dimethylsulfoxid (100 ml) wird 3,5 Stdn. auf 90° erhitzt. Anschließend wird das Dimethylsulfoxid *in vacuo* weitgehend abdestilliert. Der Rückstand wird an einer Celite-Säule (1,1 kg) mit Fließmittel (A) chromatographiert, wobei neben nicht umgesetzten Ausgangsmaterial und geringen Mengen unbekannter Produkte 2,3'-Anhydro-1-(2'-desoxy-5'-O-mesyl- β -D-threo-pentofuranosyl)thymidin (**13**) (0,55 g, 17,7%, nach Umkristallisieren aus Wasser) und 2,5'-Anhydro-1-(2'-desoxy-3'-O-mesyl- β -D-erythro-pentofuranosyl)thymidin (**14**) (0,33 g, 10,5%) erhalten werden.

Verbindung **13** ergab nach Kristallisation aus Wasser : Schmp. 175–178° (Zers.); $[\alpha]_D^{22} - 59,5^\circ$ (*c* 1,69, *N,N*-Dimethylformamid); [Lit.¹⁶ : Schmp. 177–178° (Zers.); $[\alpha]_D^{23} - 61^\circ$ (*c* 1,23, *N,N*-Dimethylformamid)]; u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{\max} 204 und 248 nm, λ_{\min} 219 nm.

Das Anhydro-Nucleosid geht bei 24 stdg. Behandeln mit *M* Natriumhydroxyd bei Raumtemperatur quantitativ in 1-(2'-Desoxy-3',5'-anhydro- β -D-threo-pentofuranosyl)thymidin (**15**) vom Schmp. 193–194° nach Kristallisation aus Äthanol über; $[\alpha]_D^{20} - 123,8^\circ$ (*c* 1,11, Wasser); [Lit.¹⁷ : 193,5–194°; $[\alpha]_D^{24} - 127^\circ$ (*c* 1,0, Wasser)].

Verbindung **14** ergab Schmp. 178–180° (Zers.) nach Kristallisation aus 95% Methanol; $[\alpha]_D^{22} + 50^\circ$ (*c* 1,4, *N,N*-Dimethylformamid); [Lit.¹⁸ : Schmp. 182–183° (Zers.); $[\alpha]_D^{26} + 52^\circ$ (*c* 0,4, *N,N*-Dimethylformamid)]; u.v. Spektrum (Methanol) : λ_{\max} 249 nm, λ_{\min} 218 nm. Dieses Anhydro-Nucleosid bildet bei 2 stdg. Behandeln mit *M* Natriumhydroxyd bei Raumtemperatur neben wenig 3'-O-Mesylthymidin 90% 2'-Desoxy- β -D-threo-pentofuranosylthymidin (**16**).

4',5'-Didehydro-5'-desoxythymidin (18). — Ein Gemisch aus 5'-Desoxy-5'-jodthymidin (**17**, 3,5 g, 10 mmol), trockenem Kaliumfluorid (2,4 g, 41,4 mmol) und Dimethylsulfoxid (100 ml) wird unter Rühren während 7 Stdn. auf 90° erhitzt. Danach wird vom Ungelösten abgetrennt und das Dimethylsulfoxid *in vacuo* (80° Badtemperatur) weitgehend abdestilliert. Das restliche Lösungsmittel wird durch mehrfache Äther-Extraktion beseitigt. Der Rückstand wird an einer Celite-Säule (550 g) mit Fließmittel (A) chromatographiert und ergibt **18** (0,35 g, 15,6%), das nach zweimaligem Umkristallisieren aus 96% Äthanol bei 196–197,5° (Zers.) schmilzt. Aus den Mutterlaugen und den Mischfraktionen der säulenchromatographischen Trennung kann weiteres Produkt gewonnen werden. Die Substanz entfärbt wässrige Jod-Lösung sofort; $[\alpha]_D^{22} + 2,1^\circ$ (*c* 0,57, Methanol); u.v. Spektrum (Wasser) : λ_{\max} 266 nm (ϵ 9560), λ_{\min} 235 nm (ϵ 3430). N.m.r. Spektrum : die 5'-Protonen erscheinen als AB-System bei τ 4,07 und τ 4,20. Die Signale sind durch „long-range“-Kopplung mit H-3' schwach aufgespalten. Ein für H-4' charakteristisches Signal tritt nicht auf.

Anal. Ber. für $C_{10}H_{12}N_2O_4$ (224,21) : C, 53,55; H, 5,40; N, 12,51. Gef. : C, 53,64; H, 5,66; N, 12,27.

DANK

Wir danken Herrn Prof. M. Pletscher, Hoffmann-La Roche and Co., AG, Basel, für die Überlassung von 2'-Desoxy-5-fluoruridin und Herrn Dr. A. Holý, Prag, für die Überlassung von 2'-Desoxyuridin. Herrn Dr. E. Gründemann, Institut für Organische Chemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Adlershof, sind wir für die Aufnahme und Hilfe bei der Diskussion der p.m.r. Spektren, Herrn Dr. J. Malur aus unserem Institut für die Aufnahme der u.v. Spekten zu Dank verpflichtet.

LITERATUR

- 1 P. LANGEN, G. ETZOLD, R. HINTSCHE UND G. KOWOLLIK, *Acta Biol. Med. Germ.*, im Druck.
- 2 P. LANGEN UND G. KOWOLLIK, *Eur. J. Biochem.*, 6 (1968) 344.
- 3 J. F. CODINGTON, I. L. DOERR UND J. J. FOX, *J. Org. Chem.*, 29 (1964) 558, 564; I. L. DOERR UND J. J. FOX, *J. Org. Chem.*, 32 (1967) 1462; R. J. CUSHLEY, J. F. CODINGTON UND J. J. FOX, *Can. J. Chem.*, 46 (1968) 1131.
- 4 H. M. KISSMAN UND M. J. WEISS, *J. Amer. Chem. Soc.*, 80 (1958) 5559; J. A. WRIGHT UND N. F. TAYLOR, *Carbohydr. Res.*, 6 (1968) 347.
- 5 G. ETZOLD, R. HINTSCHE, G. KOWOLLIK UND P. LANGEN, unveröffentlicht.
- 6 E. J. REIST, A. BENITEZ UND L. GOODMAN, *J. Org. Chem.*, 29 (1964) 554.
- 7 Y. NISHIZAWA, J. E. CASIDA, S. W. ANDERSON UND C. HEIDELBERGER, *Biochem. Pharmac.*, 14 (1965) 1605.
- 8 M. J. ROBINS, J. R. MCCARTHY UND R. K. ROBINS, *Biochemistry*, 5 (1966) 224.
- 9 E. BENZ, N. F. ELMORE UND L. GOODMAN, *J. Org. Chem.*, 30 (1965) 3067.
- 10 A. M. MICHELSON UND A. R. TODD, *J. Chem. Soc.*, (1954) 34.
- 11 W. ANDERSEN, D. H. HAYES, A. M. MICHELSON UND A. R. TODD, *J. Chem. Soc.*, (1954) 1882.
- 12 B. A. OTTER UND J. J. FOX in W. ZORBACH UND R. S. TIPSON, (Eds.), *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry*, Vol. 1, Interscience, New York, 1968, S.285.
- 13 A. B. FOSTER, R. HEMS UND J. M. WEBBER, *Carbohydr. Res.*, 5 (1967) 292; J. S. BRIMACOMBE, A. B. FOSTER, R. HEMS UND L. D. HALL, *Carbohydr. Res.*, 8 (1968) 249.
- 14 W. H. PRUSOFF, *Biochim. Biophys. Acta*, 32 (1959) 295.
- 15 A. M. MICHELSON UND A. R. TODD, *J. Chem. Soc.*, (1955) 816.
- 16 J. J. FOX UND N. C. MILLER, *J. Org. Chem.*, 28 (1963) 936.
- 17 J. P. HORWITZ, J. CHUA, J. A. URBANSKI UND M. NOEL, *J. Org. Chem.*, 28 (1963) 942.
- 18 I. L. DOERR, R. J. CUSHLEY UND J. J. FOX, *J. Org. Chem.*, 33 (1968) 1592.
- 19 L. HOUGH UND B. A. OTTER, *Chem. Commun.*, (1966) 173; J. P. H. VERHEYDEN UND J. G. MOF-FATT, *J. Amer. Chem. Soc.*, 88 (1966) 5684; S. INOKAWA, H. YOSHIDA, C.-C. WANG UND R. L. WHISTLER, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 41 (1968) 1472.
- 20 G. ETZOLD UND P. LANGEN, *Chem. Ber.*, 98 (1965) 1988.

Carbohydr. Res., 12 (1970) 301-311