

Nucleoside, VIII¹⁾

Synthese von 2'-O-, 3'-O- und 5'-O-Benzylcytidin

Wolfgang Hutzenlaub und Wolfgang Pfleiderer*

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz, D-7750 Konstanz, Postfach 733

Eingegangen am 30. Oktober 1972

Die Synthese der drei Mono-*O*-benzyläther des Cytidins **14**, **15** und **19** durch Benzylierung des *N*⁶-Benzoyl-3',5'- (**4**), *N*⁶-Benzoyl-2',5'-di-*O*-tritylcytidins (**3**) und *N*⁶-Benzoyl-2',3'-*O*-isopropylidencytidins (**21**) mit der NaH-Methode und nachfolgender Schutzgruppenabspaltung wird beschrieben. Die neu synthetisierten Substanzen werden durch Spektren charakterisiert.

Nucleosides, VIII¹⁾

Synthesis of 2'-O-, 3'-O- and 5'-O-Benzylcytidine

The synthesis of the three monobenzyl ethers of cytidine **14**, **15** and **19** by benzylation of *N*⁶-benzoyl-3',5'- (**4**), *N*⁶-benzoyl-2',5'-di-*O*-tritylcytidine (**3**) and *N*⁶-benzoyl-2',3'-*O*-isopropylidencytidine (**21**) via the NaH-method as well as removal of the various blocking groups is described. The newly synthesized compounds were characterized by various spectra.

In Fortführung unserer Untersuchungen zur *O*-Benzylierung am Zuckerteil von Nucleosiden haben wir uns nach dem Uridin²⁾ und Adenosin¹⁾ sowie ersten orientierenden Versuchen am Cytidin³⁾ verstärkt diesem Nucleinsäurebaustein zugewandt. Die früheren Resultate in dieser Reihe haben schon gezeigt, daß eine selektive *O'*-Benzylierung mit der NaH-Methode²⁾ erreicht werden kann, wenn man dafür Sorge trägt, daß die Aminogruppe durch Acylierung geschützt und dadurch das Aglycon in seiner Reaktivität abgeschwächt wird. Infolge der geringeren Hydrolyseempfindlichkeit der Benzoylgruppe gaben wir ihr den Vorzug gegenüber der *N*⁶-Acetyl-Schutzgruppe.

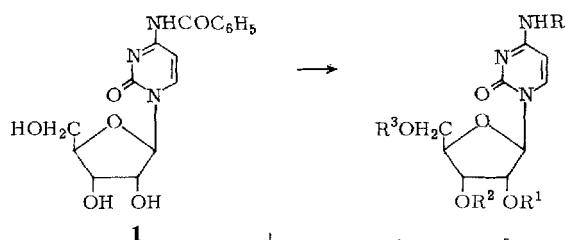
Im Bemühen, das 2'-*O*-, 3'-*O*- und 5'-*O*-Benzylcytidin auf eindeutigem Wege synthetisch zugänglich zu machen, wurden in Analogie zu den früheren Untersuchungen zur weiteren Blockierung der Zucker-Hydroxylgruppen zunächst Mehrfachtritylierungen am *N*⁶-Benzoylcytidin (**1**)⁴⁾ durchgeführt. Erhitzt man **1** in Pyridin mit der dreifachen Menge Tritylchlorid 16 h auf 90°, so erhält man ein komplexes Substanzgemisch, das sich durch schichtchromatographische Trennung in vier Komponenten, das *N*⁶-Benzoyl-5'-*O*-tritylcytidin (**2**) mit 26%, die Isomeren *N*⁶-Benzoyl-2',5'-di-*O*-trityl- (**3**) und *N*⁶-Benzoyl-3',5'-di-*O*-tritylcytidin (**4**) mit 24% bzw. 17% sowie das *N*⁶-Benzoyl-2',3',5'-tri-*O*-tritylcytidin (**5**) mit 4% Ausbeute, zerlegen ließ.

1) VII. Mitteil.: W. Pfleiderer, D. Autenrieth und M. Schranner, Chem. Ber. **106**, 317 (1973).

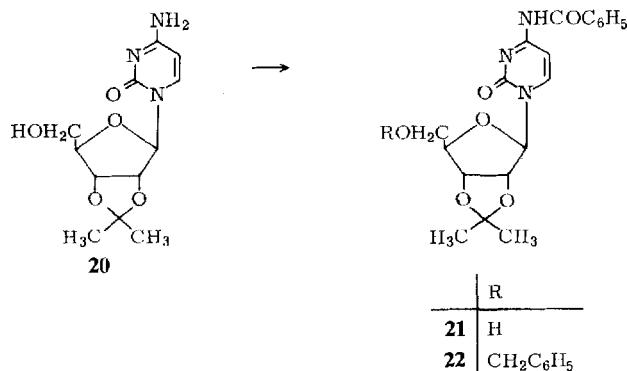
2) H. U. Blank und W. Pfleiderer, Liebigs Ann. Chem. **742**, 1 (1970).

3) H. U. Blank und W. Pfleiderer, Liebigs Ann. Chem. **742**, 16 (1970).

4) K. A. Watanabe und J. J. Fox, Angew. Chem. **78**, 589 (1966); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **4**, 579 (1966).



	R	R ¹	R ²	R ³
2	C ₆ H ₅ CO	H	H	Tr
3	C ₆ H ₅ CO	Tr	H	Tr
4	C ₆ H ₅ CO	H	Tr	Tr
5	C ₆ H ₅ CO	Tr	Tr	Tr
6	H	H	H	Tr
7	H	H	Tr	Tr
8	H	Tr	H	Tr
9	H	Tr	Tr	Tr
10	C ₆ H ₅ CO	CH ₂ C ₆ H ₅	Tr	Tr
11	C ₆ H ₅ CO	Tr	CH ₂ C ₆ H ₅	Tr
12	H	CH ₂ C ₆ H ₅	Tr	Tr
13	H	Tr	CH ₂ C ₆ H ₅	Tr
14	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H
15	H	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H
16	C ₆ H ₅ CO	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H
17	C ₆ H ₅ CO	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H
18	C ₆ H ₅ CO	H	H	CH ₂ C ₆ H ₅
19	H	H	H	CH ₂ C ₆ H ₅



	R
21	H
22	CH ₂ C ₆ H ₅

Die Charakterisierung und Strukturzuordnung der Produkte **2**–**5** erfolgte durch Entbenzoylierung mit Ammoniak bzw. Natriummethylat zu 5'-Mono- (**6**), 3',5'-Di- (**7**), 2',5'-Di- (**8**) und 2',3',5'-Tri-*O*-tritylcytidin (**9**) und deren Vergleich mit authenti-

schem Material^{3,5)}. Während für **6**, **7** und **8** Übereinstimmung in den physikalischen Daten gefunden wurde, scheint das in der Literatur genannte **9**⁵⁾ nicht einheitlich gewesen zu sein und erfordert eine Revision des Schmelzpunktes von 241–244° auf 287–289° sowie des UV-Maximums in Methanol von 277 auf 265 nm.

Bei der Benzylierung der beiden isomeren *N*⁶-Benzoyl-di-*O*'-tritylcytidine **3** und **4** mit Benzylchlorid/NaH in Benzol/Dioxan reagierte **4** erwartungsgemäß glatt und einheitlich zum *N*⁶-Benzoyl-2'-*O*-benzyl-3',5'-di-*O*-tritylcytidin (**10**), während für **3** aufgrund der sterisch stärker gehinderten und in der Reaktivität abgeschwächten 3'-OH-Gruppe längere Reaktionszeiten erforderlich waren. Neben dem zu 60% gebildeten *N*⁶-Benzoyl-3'-*O*-benzyl-2',5'-di-*O*-tritylcytidin (**11**) entstand noch eine zweite Verbindung, deren Struktur allerdings noch nicht eindeutig geklärt werden konnte. NMR-spektroskopische Untersuchungen geben zu erkennen, daß Entbenzoylierung am *N*⁶-Atom stattgefunden hat und eine Benzylgruppe an bislang unbekannter Position in das Molekül eingetreten ist.

Die Abspaltung der säure- und alkalilabilen Schutzgruppen in **10** und **11** kann nach beiden Richtungen hin erfolgen. So erhält man mit Natriummethylat in Methanol bzw. methanolischem Ammoniak bei 0° das 2'-*O*-Benzyl-3',5'-di-*O*-trityl- (**12**) und das 3'-*O*-Benzyl-2',5'-di-*O*-tritylcytidin (**13**), und nachfolgende Abspaltung der Tritylreste mit kochender 80proz. Essigsäure oder mit HCl-gasgesättigtem Dioxan bei 0° lieferte das früher von *Ukita* auf anderem Wege erhaltene 2'- (**14**)⁶⁾ bzw. 3'-*O*-Benzylcytidin (**15**). Behandelt man **10** und **11** zuerst mit Säure, so lassen sich das *N*⁶-Benzoyl-2'-*O*- (**16**) bzw. das *N*⁶-Benzoyl-3'-*O*-benzylcytidin (**17**) isolieren.

Zur Darstellung des 5'-*O*-Benzylcytidins (**19**) gingen wir von 2',3'-*O*-Isopropyliden-cytidin (**20**) aus, das zunächst an der Aminogruppe zu **21** benzoiliert und anschließend nach der Benzylchlorid/NaH-Methode benzyliert wurde. Die hierfür erforderliche, relativ lange Reaktionszeit hatte keinen nachteiligen Einfluß auf die Produktbildung, denn es entstand, wie chromatographisch leicht festgestellt werden kann, nur ein neues Umsetzungsprodukt. Obwohl es nicht kristallin und analytisch rein erhalten werden konnte, handelt es sich hierbei ohne Frage um das *N*⁶-Benzoyl-5'-benzyl-2',3'-*O*-isopropylidencytidin (**22**); denn Säurehydrolyse führte zum *N*⁶-Benzoyl-5'-*O*-benzylcytidin (**18**), und nachfolgende Entbenzoylierung lieferte **19**.

Zur weiteren Charakterisierung der verschiedenen Substanzen wurden ihre UV-Absorptionsspektren in Methanol bzw. Wasser aufgenommen sowie von den drei Mono-*O*'-benzyl-Derivaten des Cytidins **14**, **15** und **19** die basischen *pK_a*-Werte auf spektrophotometrischem Wege bestimmt (Tab.). Erwartungsgemäß sind die Werte im Bereich der Fehlergrenzen gleich, und auch die UV-Spektren der Monokationen und Neutralmoleküle lassen keine signifikanten Unterschiede erkennen. Allerdings weist auch in dieser Reihe das 3'-*O*-Substitutionsprodukt die höchsten Extinktionswerte in der langwelligen Bande auf, ein Merkmal, das schon bei früheren Untersuchungen aufgefallen war³⁾.

5) U. Brodbeck und J. G. Moffatt, J. Org. Chem. **35**, 3552 (1970).

6) K. Kikugawa, F. Sato, T. Tsuruo, N. Imura und T. Ukita, Chem. Pharm. Bull. **16**, 1110 (1968).

Tab. Physikalische Daten von Cytidin-Derivaten

-cytidin	pK _a -Werte *) in Wasser 20° Streuung	UV-Absorptions- spektren			pH-Wert	Molekül- art **)
		λ _{max} (nm)	lg ε			
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-2',5'- di- <i>O</i> -trityl- (3)		261 307	4.32 3.87	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-3',5'- di- <i>O</i> -trityl- (4)		260 305	4.37 4.00	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-2',3',5'- tri- <i>O</i> -trityl- (5)		261 [305]	4.31 [3.81]	Methanol	0	
3',5'-Di- <i>O</i> -trityl- (7)		267	3.94	Methanol	0	
2',5'-Di- <i>O</i> -trityl- (8)		265	3.86	Methanol	0	
2',3',5'-Tri- <i>O</i> -trityl- (9)		265	3.96	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-2'- <i>O</i> - benzyl-3',5'-di- <i>O</i> - trityl- (10)		260 305	4.36 3.94	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-3'- <i>O</i> - benzyl-2',5'-di- <i>O</i> - trityl- (11)		260 305	4.39 3.96	Methanol	0	
2'- <i>O</i> -Benzyl-3',5'- di- <i>O</i> -trityl- (12)		267	4.02	Methanol	0	
3'- <i>O</i> -Benzyl-2',5'- di- <i>O</i> -trityl- (13)		265	3.91	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-2'- <i>O</i> - benzyl- (16)		259 304	4.38 4.02	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-3'- <i>O</i> - benzyl- (17)		259 302	4.27 3.88	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-5'- <i>O</i> - benzyl- (18)		258 304	4.34 4.01	Methanol	0	
<i>N</i> ⁶ -Benzoyl-2',3'- <i>O</i> -isopropyliden- (21)		258 303	4.32 3.93	Methanol	0	
2'- <i>O</i> -Benzyl- (14)	4.09 ± 0.06	208 280 [235] 271	4.20 4.03 [3.85] 3.91	1.0 6.0	+	0
3'- <i>O</i> -Benzyl- (15)	4.05 ± 0.07	208 278 [230] 270	4.23 4.13 [3.90] 3.97	1.0 6.0	+	0
5'- <i>O</i> -Benzyl- (19)	4.04 ± 0.1	208 279 [232] 271	4.24 4.10 [3.86] 3.93	1.0 6.0	+	0

*) Spektrophotometrisch bestimmt nach A. Albert und E. P. Sergeant, Ionization Constants of Acids and Bases, S. 69, Methuen & Co Ltd., London 1962.

**) 0 = Neutralmolekül; + = Kation.

[] Schulter.

Durch eine genaue Analyse der NMR-Spektren von **14**, **15** und **19** in DMSO-D₆ jedoch wird offenkundig, daß die chemischen Verschiebungen verschiedener ¹H-Signale eine charakteristische Abhängigkeit von der Position der Benzylgruppe am Kohlenhydratteil des Moleküls besitzen. So liegen die chemischen Verschiebungen des C⁴-H, C^{1'}-H und der Benzyl-CH₂-Gruppe im 2'-*O*-Benzylcytidin (**14**) jeweils bei tiefstem Feld und wandern mit zunehmender Entfernung der Benzylgruppe vom

glycosidischen C¹-Atom gleichermaßen zu höherem Feld. Interessanterweise ist nur in **15** der Diastereotopieeffekt so groß, daß die geminale Kopplung der Benzylprotonen sichtbar wird.

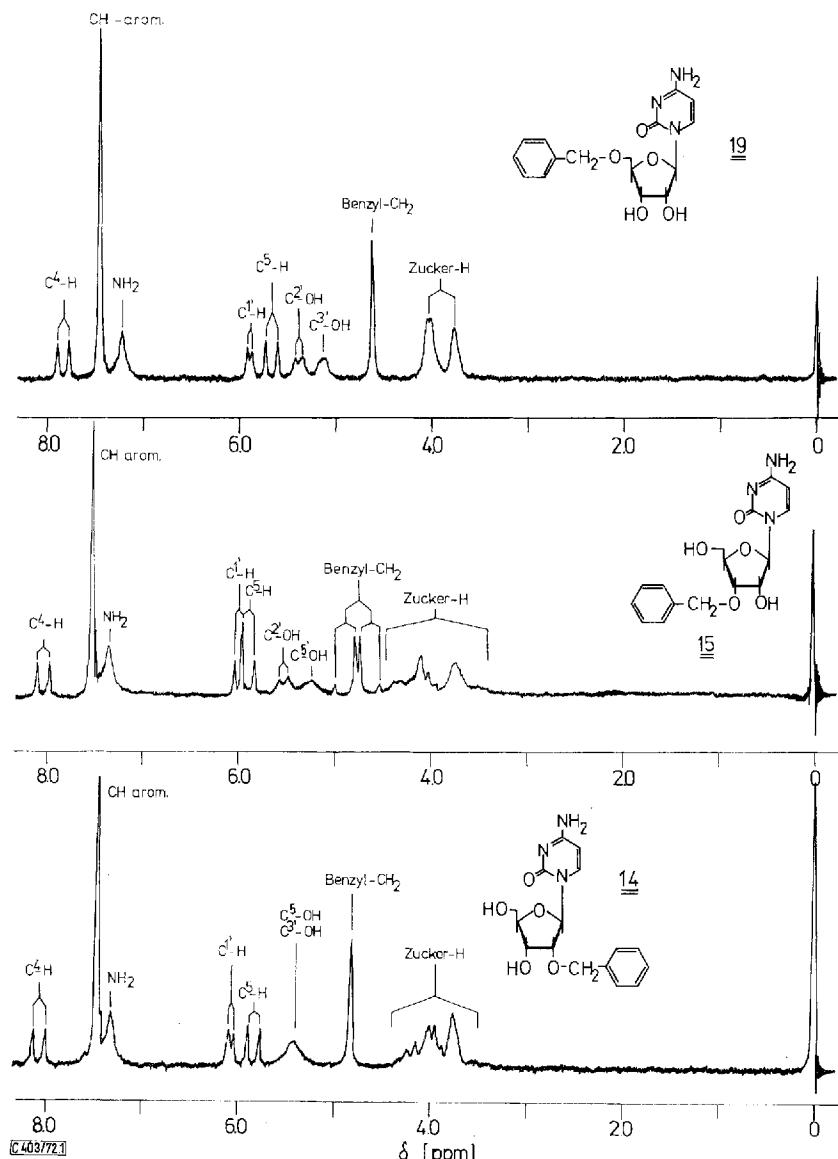


Abb. 60-MHz-NMR-Spektren von 2'- (**14**), 3'- (**15**) und 5'-O-Benzylcytidin (**19**) in DMSO-D₆ (TMS als interner Standard)

Experimenteller Teil

Die Aufnahme der UV-Absorptionsspektren sowie die spektrophotometrische Bestimmung der pK -Werte erfolgten mit einem Cary-Recording-Spektrophotometer, Modell 15, der Applied Physics Corp. Für die chromatographischen Analysen der Reaktionsuntersuchungen und -produkte wurden Polygram SIL G/UV₂₅₄- bzw. CEL 300/UV₂₅₄-Fertigfolien von Machery-Nagel verwendet. Die präparative Schichtchromatographie wurde mit Merck Silicagel PF₂₅₄ und die Säulenchromatographie mit Merck Silicagel (0.05–0.2 mm) durchgeführt. Getrocknet wurden die Substanzen in der Vakuumtrockenpistole über P_4O_{10} . Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

Tritylierung von N^6 -Benzoylcystidin (1): 0.7 g N^6 -Benzoylcystidin (1) in 10 ml Pyridin werden mit 1.67 g Tritylchlorid 16 h unter Rühren auf 90° erhitzt. Die Reaktionslösung wird dann unter intensivem Rühren in 100 ml Eiswasser eingetropft, und nach 4 h wird der abgeschiedene amorphe Niederschlag scharf abgesaugt, gut gewaschen und im Vakuumexsiccator bzw. bei 50° im Trockenschrank getrocknet. Ausb. 2.41 g gelbliches amorphes Pulver.

Die Substanz wird in wenig Chloroform auf vier präparative Kieselgel-Platten (40 × 20 × 0.15 cm) aufgetragen. Durch Mehrfachentwicklung in Chloroform/Äthylacetat tritt Auftrennung in insgesamt 7 Zonen ein. Sie werden ausgeschnitten, mit Chloroform/Methanol (9:1) eluiert, filtriert und nach Einengen der Rückstand jeweils aus Äthanol/Wasser umkristallisiert.

Aus Zone 1 (kleinster R_F -Wert) erhält man 0.307 g (26%) farblose Kristalle N^6 -Benzoyl-5'-*O*-tritylcystidin (2) vom Schmp. 203°. Lit.⁷⁾: Schmp. 202°.

Zone 3 liefert 0.29 g (17%) N^6 -Benzoyl-3',5'-di-*O*-tritylcystidin (4) in farblosen Kristallen vom Schmp. 242°.

$C_{54}H_{45}N_3O_6$ (832.0) Ber. C 77.96 H 5.45 N 5.05 Gef. C 78.02 H 5.43 N 5.02

Zone 4 ergibt 0.42 g (24%) N^6 -Benzoyl-2',5'-di-*O*-tritylcystidin (3) in farblosen Kristallen vom Schmp. 170° (Sintern).

$C_{54}H_{45}N_3O_6$ (832.0) Ber. C 77.96 H 5.45 N 5.05 Gef. C 78.11 H 5.45 N 4.79

Zone 6 besteht aus 0.082 g (4%) N^6 -Benzoyl-2',3',5'-tri-*O*-tritylcystidin (5) in farblosen Kristallen vom Schmp. 180–183°.

$C_{73}H_{59}N_3O_6$ (1074.3) Ber. C 81.62 H 5.53 N 3.91 Gef. C 82.32 H 5.65 N 3.86

Die Substanz der Zone 7 ließ sich als Triphenylcarbinol identifizieren.

$3',5'$ -Di-*O*-tritylcystidin (7)^{3,5)}: 0.2 g N^6 -Benzoyl-3',5'-di-*O*-tritylcystidin (4) werden in 10 ml bei 0° mit NH_3 gesättigtem Methanol 5 Tage im Eisschrank stehengelassen. Man engt zur Trockne ein und versetzt den Rückstand mit wenig Aceton. Nach kurzer Zeit scheiden sich farblose Kristalle ab, die durch Zugabe von etwas Wasser vermehrt werden. Nach Aabsaugen wird bei 100° getrocknet (0.16 g). Umkristallisation aus 7 ml Aceton/3 ml Methanol ergibt 0.11 g (63%) farblose Kristalle vom Schmp. 222°. Lit.⁵⁾: Schmp. 225–226°.

$C_{47}H_{41}N_3O_5$ (727.9) Ber. C 77.56 H 5.68 N 5.77 Gef. C 77.57 H 5.71 N 6.10

$2',5'$ -Di-*O*-tritylcystidin (8)^{3,5,8)}: Aus 0.3 g N^6 -Benzoyl-2',5'-di-*O*-tritylcystidin (3) in 15 ml methanolischem Ammoniak erhält man wie vorstehend 0.245 g (93%) Rohprodukt. Umkristallisation aus 7 ml Aceton ergibt 0.15 g (57%) farblose Kristalle vom Schmp. 184°. Lit.⁵⁾: Schmp. 180–182°.

$C_{47}H_{41}N_3O_5$ (727.9) Ber. C 77.56 H 5.68 N 5.77 Gef. C 77.46 H 5.85 N 5.61

⁷⁾ D. H. Rammel und H. G. Khorana, J. Am. Chem. Soc. **84**, 3112 (1962).

⁸⁾ Y. Mizuno und T. Sasaki, Tetrahedron Lett. **1965**, 4579.

*2',3',5'-Tri-O-tritylcytidin (9)*⁵: 0.55 g *N*⁶-Benzoyl-2',3',5'-tri-O-tritylcytidin (5) werden in 20 ml Methanol, das bei 0° mit Ammoniak gesättigt wurde, gelöst. Nach wenigen Stunden beginnt sich ein Niederschlag abzuscheiden. Tags darauf wird abgesaugt (0.45 g), und Umkristallisation aus Methylchlorid/Methanol (1:2) liefert 0.23 g (47%) farblose Kristalle vom Schmp. 287–289°.

$C_{66}H_{55}N_3O_5$ (970.2) Ber. C 81.70 H 5.71 N 4.34 Gef. C 81.51 H 5.81 N 4.14

*N*⁶-Benzoyl-2'-O-benzyl-3',5'-di-O-tritylcytidin (10): 1.25 g *N*⁶-Benzoyl-3',5'-di-O-tritylcytidin (4), in 20 ml absol. Dioxan gelöst, werden durch Abrotieren zum Sirup eingeengt. Man löst in 30 ml absol. Benzol, versetzt mit 0.6 g NaH (55 proz. in Öl), gibt 20 ml absol. Dioxan und 1.5 ml Benzylchlorid zu und kocht unter Rückfluß, bis nach 2–3 h chromatographisch kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar ist. Man läßt abkühlen, filtriert durch Kieselgur, wäscht mit Benzol und neutralisiert das Filtrat mit einem Tropfen Eisessig. Nach Einengen wird der Rückstand in wenig Chloroform gelöst und auf eine in Chloroform gepackte Kieselgelsäule 20×2.5 cm gegeben. Man wäscht zunächst mit Chloroform, bis alles Benzylchlorid entfernt ist, und eluiert dann mit Chloroform/Methanol (9:1), wobei die Fraktionen chromatographisch geprüft werden. Die Hauptfraktion wird eingeengt, und es hinterbleiben 1.32 g (95%) eines festen amorphen Schaums, welcher aus Äthanol umkristallierbar ist und so in leicht gelblichen Kristallen vom Schmp. 138° (unter Sintern) anfällt.

$C_{61}H_{51}N_3O_6$ (922.0) Ber. C 79.46 H 5.58 N 4.56 Gef. C 79.22 H 5.62 N 4.50

*N*⁶-Benzoyl-3'-O-benzyl-2',5'-di-O-tritylcytidin (11): Eine Lösung von 0.832 g *N*⁶-Benzoyl-2',5'-di-O-tritylcytidin (3) in 20 ml absol. Benzol und 20 ml absol. Dioxan wird mit 0.4 g NaH (55 proz. in Öl) und, nachdem die Gasentwicklung aufgehört hat, mit 1 ml Benzylchlorid versetzt. Man kocht dann 3–5 h unter Rückfluß, bis chromatographisch kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar ist. Nach Abkühlen wird durch Kieselgur abgesaugt, mit Benzol gewaschen, mit einem Tropfen Eisessig neutralisiert und dann am Rotationsverdampfer eingeengt. Der ölige Rückstand wird in Chloroform gelöst und nach Waschen mit 20 ml Wasser die etwas eingeengte Chloroformphase auf 3 Kieselgelplatten (40×20×0.15 cm) aufgetragen. Man entwickelt zweimal mit Chloroform/Äthylacetat (75:4) und erhält Auf trennung in zwei Bänder. Die langsamer laufende Bande wird mit Chloroform/Methanol (9:1) eluiert, dann eingeengt und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert. Durch Zugabe von etwas Wasser wird die Kristallisation vervollständigt (0.55 g). Erneute Umkristallisation aus Äthanol ergibt 0.49 g (53%) farblose Kristalle vom Schmp. 135–140° (Sintern).

$C_{61}H_{51}N_3O_6$ (922.0) Ber. C 79.46 H 5.58 N 4.59 Gef. C 79.21 H 5.58 N 4.29

2'-O-Benzyl-3',5'-di-O-tritylcytidin (12): 0.8 g *N*⁶-Benzoyl-2'-O-benzyl-3',5'-di-O-tritylcytidin (10) werden in 50 ml Methanol aufgeschlämmt, mit 0.2 g Natriummethylat versetzt und 45 min unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird mit Ionenaustauscher Dowex 50×4 (H⁺-Form) neutralisiert, filtriert und dann das Filtrat zur Trockne eingeengt. Umkristallisation aus Äthanol/Wasser (1:1) ergibt zunächst 0.49 g (70%) farblose Kristalle vom Schmp. 140°, und weitere Reinigung liefert 0.35 g (50%) vom Schmp. 144–147° (unter Sintern).

$C_{54}H_{47}N_3O_5$ (818.0) Ber. C 79.29 H 5.79 N 5.14 Gef. C 79.06 H 5.82 N 4.94

3'-O-Benzyl-2',5'-di-O-tritylcytidin (13): Zur Lösung von 0.3 g *N*⁶-Benzoyl-3'-O-benzyl-2',5'-di-O-tritylcytidin (11) in 5 ml Chloroform gibt man 25 ml Methanol, 20 ml bei 0° gesättigtes Methanol. Ammoniak und setzt dann soviel konz. Ammoniak zu, bis eine leichte Trübung auftritt. Man läßt 2 Tage bei Raumtemp. stehen und saugt dann die abgeschiedenen Kristalle ab (0.26 g). Umkristallisation aus 20 ml Äthanol/Wasser (1:2) ergibt 0.23 g (87%) farblose Kristalle vom Schmp. 275°.

$C_{54}H_{47}N_3O_5$ (818.0) Ber. C 79.29 H 5.79 N 5.14 Gef. C 79.14 H 5.79 N 5.25

2'-O-Benzylcytidin (14)⁶: 1.32 g rohes **10** in 30 ml Methanol werden mit 20 mg Natrium-methyleat über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Man neutralisiert mit Dowex 50×4 (H⁺-Form), wäscht mit Methanol und engt dann zur Trockne ein. Der chromatographisch reine Rückstand (**12**) wird in 50 ml 80proz. Essigsäure 20 min unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen wird mit 50 ml Wasser verdünnt, vom abgeschiedenen Triphenylcarbinol abgesaugt und dann zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird, in wenig Chloroform gelöst, auf drei Kieselgelplatten (40×20×0.15 cm) aufgetragen. Man entwickelt mit Chloroform/Methanol (8:2), schneidet die Hauptzone aus und eluiert mit Methanol/Äthylacetat (1:1). Das Eluat wird zur Trockne eingeengt, der Rückstand in absol. Äthanol durch Kieselgur filtriert und dann erneut eingeengt. Der Rückstand wird aus 4 ml Isopropylalkohol umkristallisiert, wobei man zur Vervollständigung der Kristallabscheidung etwas Äther zusetzt (0.4 g). Nochmalige Umkristallisation aus 10 ml Isopropylalkohol liefert 0.283 g (57%) farblose Kristalle, welche nach Trocknen bei 80°/10⁻³ Torr bei 182.5° schmelzen. Lit.⁶: Schmp. 183–184°.

$C_{16}H_{19}N_3O_5$ (333.3) Ber. C 57.65 H 5.72 N 12.61 Gef. C 57.55 H 5.75 N 12.45

3'-O-Benzylcytidin (15): Zur Lösung von 0.92 g **11** in 60 ml Methanol/Chloroform (1:1) gibt man 20 ml konz. Ammoniak, wobei eine leichte Trübung auftritt. Nach 30 h wird zur Trockne eingeengt. Der sirupöse Rückstand wird in 100 ml 80proz. Essigsäure 20 min unter Rückfluß gekocht. Man engt wieder zur Trockne ein und behandelt den Rückstand zweimal mit je 30 ml Wasser zur Abtrennung des unlöslichen Triphenylcarbinols. Das Filtrat wird eingeengt, der Rückstand in wenig Chloroform auf eine Kieselgelplatte (40×20×0.15 cm) aufgetragen. Man entwickelt mit Chloroform/Methanol (4:1), trennt die Hauptbande ab, eluiert mit Chloroform/Methanol (1:1) und kristallisiert nach Einengen den Rückstand aus Aceton um (0.38 g vom Schmp. 135–138°). Durch weitere Umkristallisation aus 30 ml Aceton erhält man 0.142 g (40%) farblose Kristalle vom Schmp. 147°.

$C_{16}H_{19}N_3O_5$ (333.3) Ber. C 57.65 H 5.75 N 12.61 Gef. C 57.54 H 5.66 N 12.34

N⁶-Benzoyl-2'-O-benzylcytidin (16): 1.84 g **10** werden in 50 ml Dioxan, welches bei 0° mit HCl-Gas gesättigt wurde, gelöst. Nach 20 min wird zur Trockne eingeengt, der Rückstand in 15 ml Äthanol gelöst und dann 2 ml Wasser zugesetzt. Es scheiden sich 0.62 g (68%) farblose Kristalle vom Schmp. 110° (Sintern) ab.

Das Filtrat wird eingeengt, der Rückstand in wenig Chloroform auf zwei Kieselgelplatten (40×20×0.15 cm) aufgetragen. Man entwickelt mit Äthylacetat, eluiert die Hauptbande mit Methanol und erhält durch partielles Einengen weitere 0.1 g (11%) farblose Kristalle vom Schmp. 110° (Sintern). Umkristallisation aus Wasser/Methanol (2:1) erhöht den Schmp. der farblosen Nadeln auf 110–114° (Sintern).

$C_{23}H_{23}N_3O_6 \cdot H_2O$ (455.5) Ber. C 60.65 H 5.53 N 9.23 Gef. C 60.52 H 5.98 N 9.61

N⁶-Benzoyl-3'-O-benzylcytidin (17): 0.23 g **11** werden in 20 ml bei 0° mit HCl-Gas gesättigtem Dioxan gelöst. Nach 10 min wird zur Trockne eingeengt und der Rückstand in Chloroform auf eine Kieselgelplatte (40×20×0.15 cm) aufgetragen. Man entwickelt mit Chloroform/Methanol (9:1), eluiert die Hauptbande mit Methanol, engt ein und erhält nach Umkristallisation aus Äthanol 0.105 g (93%) farblose Kristalle vom Schmp. 158°.

$C_{23}H_{23}N_3O_6$ (437.4) Ber. C 63.15 H 5.30 N 9.61 Gef. C 63.05 H 5.23 N 9.85

N⁶-Benzoyl-5'-O-benzylcytidin (18): Zur Lösung von 0.78 g **21** in 30 ml Benzol werden 0.4 g NaH (55proz. in Öl) gegeben und nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung 20 ml absol. Dioxan und 0.5 ml Benzylchlorid zugesetzt. Man kocht 12 h unter Rückfluß, gibt nochmals 0.5 ml Benzylchlorid zu und setzt das Kochen weitere 4 h fort. Es wird noch

warm durch eine Kieselgurschicht abgesaugt, mit Benzol gewaschen und nach Neutralisation des Filtrates mit einem Tropfen Eisessig zur Trockne abrotiert. Der sirupöse Rückstand (**22**) wird in 10 ml 98 proz. Ameisensäure gelöst. Nach 20 h wird erneut eingeengt und der Rückstand aus 20 ml Äthanol umkristallisiert. Die Kristallisation wird nach einigem Stehenlassen durch Zugabe von 20 ml Wasser vervollständigt (0.58 g). Durch partielles Einengen erhält man eine zweite Fraktion (0.18 g). Erneute Umkristallisation aus 70 ml Äthanol/Wasser (3:1) ergibt 0.61 g (70%) feine Nadeln vom Schmp. 202°.

$C_{23}H_{23}N_3O_6$ (437.4) Ber. C 63.15 H 5.30 N 9.61 Gef. C 62.98 H 5.10 N 9.47

5'-O-Benzylcytidin (**19**): 0.44 g **18** in 20 ml Methanol werden mit 10 mg Natriummethylat nach kurzem Erwärmen auf 50° 2 h bei Raumtemp. stehengelassen. Man neutralisiert mit Dowex 50×4 (H[⊕]-Form), filtriert, wäscht mit Methanol und engt zur Trockne ein. Der Rückstand wird zweimal aus Wasser und einmal aus Äthanol einrotiert. Dann wird aus wenig Methanol umkristallisiert (0.28 g). Erneute Umkristallisation aus 10 ml Methanol ergibt 0.213 g (64%) farblose Kristalle vom Schmp. 82–85°.

$C_{16}H_{19}N_3O_5$ (333.3) Ber. C 57.65 H 5.75 N 12.61 Gef. C 57.49 H 5.80 N 12.67

N⁶-Benzoyl-2',3'-O-isopropylidencytidin (**21**): Die Lösung von 6.0 g 2',3'-*O*-Isopropyliden-cytidin-hydrochlorid (**20**) in 150 ml Wasser wird mit Ionenaustauscher Dowex 1×4 (OH[⊖]-Form) neutralisiert und filtriert; Filtrat und Waschwasser engt man zur Trockne ein. Der Rückstand wird in 500 ml Methanol mit 5.0 g Benzoesäureanhydrid versetzt und 7 h unter Rückfluß gekocht. Nach 1, 2, 3 und 5 h gibt man jeweils weitere 5 g Benzoesäureanhydrid zu. Anschließend wird abrotiert, der Rückstand in möglichst wenig Chloroform gelöst und über Nacht im Eisschrank gekühlt. Der größte Teil der Benzoesäure scheidet sich ab und wird abgesaugt. Das Filtrat wird eingeengt, der Rückstand in Chloroform auf eine in Chloroform gepackte Kieselgelsäule aufgegeben. Man eluiert mit Chloroform, bis kein UV-absorbierendes Material im Eluat mehr nachweisbar ist. Anschließend wird das Elutionsmittel durch Chloroform/Äthylacetat/Methanol (20:20:3) ersetzt und so **21** von der Säule geholt. Man engt zur Trockne ein und kristallisiert den Rückstand aus Äthanol um: 3.9 g (55%) feine, farblose Nadeln vom Schmp. 181°.

$C_{19}H_{21}N_3O_6$ (387.4) Ber. C 58.91 H 5.46 N 10.85 Gef. C 58.53 H 5.30 N 10.81

[403/72]