

Hans-Joachim Fritz, Rudolf Machat und Richard R. Schmidt\*)

## Nucleosid-5'-carbonsäureester als Modelle für die Konformationsanalyse von Nucleosiden und Nucleotiden

Aus dem Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung der Universität Stuttgart

(Eingegangen am 15. September 1971)

NMR-Studien an den Nucleosid-5'-carbonsäureestern **5–8** führen zum Auffinden von zwei Rotameren in Bezug auf die glykosidische Bindung. Als Methode zur Unterscheidung zwischen diesen *syn*- und *anti*-Konformeren wird der Einfluß der durch die Rotationshinderung bedingten konformativen Chiralität auf diastereotope Protonen herangezogen. Die Schlußfolgerungen werden durch ORD- und IR-Spektren unterstützt. Es werden Verfahren zur Veresterung der Nucleosid-5'-carbonsäuren **1–4** beschrieben.

### Esters of Nucleoside-5'-carboxylic Acids as Model Compounds for Conformational Analysis of Nucleosides and Nucleotides

N.m.r. studies on the nucleoside-5'-carboxylates **5–8** lead to the detection of two rotamers with respect to the C–N-glycosidic bond. A method to distinguish between these *syn*- and *anti*-conformers is found in the influence of the conformational chirality (due to hindered rotation) on diastereotopic protons. The conclusions are augmented by o.r.d. and i.r. spectra. Procedures of esterification of the nucleoside-5'-carboxylic acids **1–4** are described.

Bei Pyrimidin-Nucleosiden führen intramolekulare Rotationen um die glykosidische C–N-Bindung zu Rotameren verschiedener Molekülgeometrie. Dabei ist im allgemeinen die *anti*-Konformation bevorzugt<sup>1)</sup>. Immer noch ungeklärt ist die Frage, ob auch bei Purin-Nucleosiden die Konformationsenergie stark vom Drehwinkel um die glykosidische Bindung<sup>2)</sup> abhängt und verschiedene Konformere in Lösung stabil sind. Eine prinzipiell gut geeignete Methode zur Untersuchung dieser Frage sollte die ORD-Spektroskopie sein. Die bisherigen Untersuchungen<sup>3)</sup> in dieser Richtung sind jedoch mit einem grundsätzlichen Mangel behaftet: Es ist beim derzeitigen Stand der Theorie nicht möglich, ein bestimmtes ORD-Spektrum eo ipso einer bestimmten Molekülgeometrie zuzuordnen. Um zu einer „Eichung“ der ORD-Methode zu kommen, sollte man also zunächst solche Modellsubstanzen untersuchen, bei denen man mit anderen, unabhängigen Methoden zu sicheren Aussagen über die Molekülgeometrie kommen kann. Als solche Modellsubstanzen eignen sich Nucleosid-5'-carbonsäureester. Man kann bei diesen Derivaten wahlweise *syn*- oder *anti*-Konformere<sup>4)</sup> stabilisieren und beobachtet im NMR-Spektrum konformationsabhängige chemische Ver-

\*) Sonderdruckanfragen bitte an R. R. S.

1) M. P. Schweizer, J. T. Witkowski und R. K. Robins, J. Amer. chem. Soc. **93**, 227 (1971).

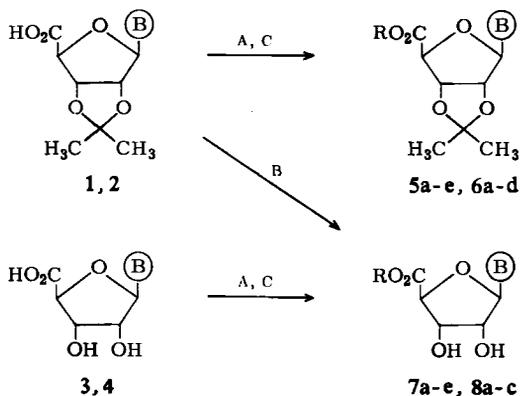
2) J. Donohue und K. N. Trueblood, J. molecular Biol. **2**, 363 (1960).

3) W. A. Klee und S. H. Mudd, Biochemistry **6**, 988 (1967).

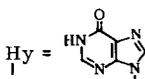
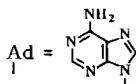
schiebungen aller Protonen-Resonanzsignale. Der deutlichste Effekt ist dabei die konformationsabhängige Nicht-Äquivalenz diastereotoper (Sätze von) Protonen in den Alkoxy-carbonylgruppen.

### Herstellung der Nucleosid-5'-carbonsäureester

Nucleosid-5'-carbonsäureester sind über die entsprechenden Nucleosid-5'-carbonsäuren<sup>4,5)</sup> zugänglich. Für die Veresterung verwenden wir folgende Methoden: Direkte Umsetzung der Nucleosid-5'-carbonsäuren mit dem entsprechenden Alkohol, Katalysator Thionylchlorid<sup>6)</sup> (Methode A). Bei **1** und **2** wird dabei in manchen Fällen gleichzeitig die Schutzgruppe abgespalten, und man kommt von der 2'.3'-*O*-isopro-



	(B)
1	Ad
2	Hy
3	Ad
4	Hy
5	Ad
6	Hy
7	Ad
8	Hy



	R
a	$\overset{\text{A}}{\text{CH}_3}$
b	$\overset{\text{A,A'}}{\text{CH}_2}-\overset{\text{B}}{\text{CH}_3}$
c	$\begin{array}{c} \text{B} \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}^{\text{A}} \\ \text{CH}_3^{\text{B}'} \end{array}$
d	$\begin{array}{c} \text{A,A'} \\ \text{CH}_2-\text{CH}^{\text{B}}-\overset{\text{C}}{\text{CH}_3} \\ \text{CH}_3^{\text{C}'}$ \end{array}
e	$\begin{array}{c} \text{A,A'} \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{D}}{\text{CH}}-\overset{\text{C}}{\text{CH}_3} \\ \text{CH}_3^{\text{D}'}$ \end{array}

<sup>4)</sup> R. R. Schmidt und H.-J. Fritz, Chem. Ber. **103**, 1867 (1970).

<sup>5)</sup> R. R. Schmidt, U. Schloz und D. Schwille, Chem. Ber. **101**, 590 (1968).

<sup>6)</sup> U. Schloz, Teil der Dissertation, Univ. Stuttgart 1970.

pyriden-geschützten Carbonsäure direkt zum ungeschützten Ester (Variante B). Umsetzung der Kaliumsalze der Nucleosid-5'-carbonsäuren mit Dialkylsulfat oder Alkylhalogenid in absolutem Dimethylformamid (Methode C).

### Spektroskopisches Verhalten der Nucleosid-5'-carbonsäureester

Die NMR-Spektren der 2'.3'-*O*-isopropyliden-geschützten und -ungeschützten Nucleosid-5'-carbonsäureester zeigen einige charakteristische Unterschiede:

1. Die Resonanzsignale der Alkoxy-carbonyl-Protonen sind bei den geschützten Estern (5, 6) gegenüber den ungeschützten (7, 8) prinzipiell zu höherem Feld verschoben (siehe Tab. 1).

2. Bei Estern mit solchen Alkoxy-carbonylgruppen, die diastereotope (Sätze von) Protonen besitzen, beobachtet man bei den geschützten Estern eine Differenz der chemischen Verschiebung der diastereotopen Protonen, nicht jedoch bei den ungeschützten Estern<sup>4, 7)</sup>. Die Größe dieser Differenz ist abhängig von folgenden Faktoren:

a) von der Art des Zentrums, an das die diastereotopen Protonen (Gruppen) gebunden sind,

b) von dem Abstand der diastereotopen Gruppierung vom 5'-C-Atom,

c) von der Temperatur.

Tab. 1. NMR- und IR-Daten

Verbindung	NMR ( $\tau$ ) in DMSO-d <sub>6</sub>	Diastereotopieeffekt (Hz)	Kopplungs- konstante (Hz)	IR (KBr) $\bar{\nu}_{5'-C=O}$ (cm <sup>-1</sup> )
5a	H <sub>A</sub> : 6.66 (s)			1724
5b	H <sub>A</sub> : 6.0 (m); H <sub>A'</sub> : 6.2 (m); H <sub>B</sub> : 8.95 (t)	ca. 11 (A, A')	J <sub>A,B</sub> : 7.5 J <sub>A',B</sub> : 7.5	1726
5c	H <sub>A</sub> : 6.95 (m); H <sub>B</sub> : 8.97 (d); H <sub>B'</sub> : 9.21 (d)	17.5 (B, B')	J <sub>A,B</sub> : 7 J <sub>A,B'</sub> : 7	1680
5d	H <sub>A</sub> : 7.50 (m); H <sub>A'</sub> : 7.70 (m) H <sub>B</sub> : 7.75 (m); H <sub>C</sub> : 9.25 (d) H <sub>C'</sub> : 9.28 (d)	ca. 11 (A, A') ca. 2 (C, C')	J <sub>B,C</sub> : 7 J <sub>B,C'</sub> : 7	1735
5e	H <sub>AA'</sub> : 6.3; H <sub>BB'</sub> : 9.0 (m); H <sub>C</sub> : ca. 9.25 (m); H <sub>DD'</sub> : 9.27 (d)	< 1 (D, D')		1738
6a	H <sub>A</sub> : 6.58 (s)			
6b	H <sub>A</sub> : 5.95 (m); H <sub>A'</sub> : 6.15 (m) H <sub>B</sub> : 8.92 (t)	ca. 11 (A, A')	J <sub>A,B</sub> : 7 J <sub>A',B</sub> : 7	
6c	H <sub>A</sub> : 6.9 (m); H <sub>B</sub> : 8.80 (d) H <sub>B'</sub> : 8.95 (d)	13.5 (B, B')	J <sub>A,B</sub> : 6 J <sub>A,B'</sub> : 6	1727
6d	H <sub>A</sub> : 6.15 (m); H <sub>A'</sub> : 6.35 (m) H <sub>B</sub> : 8.12 (m); H <sub>C</sub> : 9.17 (d) H <sub>C'</sub> : 9.18 (d)	ca. 11 (A, A') 0.8 (C, C')	J <sub>B,C</sub> : 6 J <sub>B,C'</sub> : 6	
7a	H <sub>A</sub> : 6.19 (s)			1750
7b	H <sub>AA'</sub> : 5.75 (q); H <sub>B</sub> : 8.75 (t)		J <sub>A,B</sub> : 6	1742
7c	H <sub>A</sub> : 6.3 (m); H <sub>BB'</sub> : 8.77 (d)		J <sub>A,B</sub> : 7	1721
7d	H <sub>AA'</sub> : 6.05 (d); H <sub>B</sub> : 6.48 (m) H <sub>CC'</sub> : 9.12 (d)		J <sub>A,B</sub> : 6 J <sub>B,C</sub> : 6	1736
7e	H <sub>AA'</sub> : 5.8 (?); H <sub>BB'</sub> : 6.6 (m) H <sub>C</sub> : 8.5 (m); H <sub>DD'</sub> : 9.08 (d)	alle Diastereotopieeffekte < 1	J <sub>B,C</sub> : 6 J <sub>C,D</sub> : 6	1747
8a	H <sub>A</sub> : 6.25 (s)			
8b	H <sub>AA'</sub> : 5.78 (q); H <sub>B</sub> : 8.76 (t)		J <sub>A,B</sub> : 7	
8c	H <sub>A</sub> : 5.67 (m); H <sub>BB'</sub> : 8.81 (d)		J <sub>A,B</sub> : 7	1740

<sup>7)</sup> Bei der Auflösung des verwendeten NMR-Spektrometers könnte diese Differenz bei den ungeschützten Estern maximal 1 Hz betragen.

Tab. 2. ORD-Spektren in Acetonitril

Verb.	$\lambda_{\max}$ (m $\mu$ )	1. Extr. (m $\mu$ )	Null (m $\mu$ )	2. Extr. (m $\mu$ )	Null (m $\mu$ )	3. Extr. (m $\mu$ )	Null (m $\mu$ )
6c	243	283(-)	270	254(+)	240	230(-)	—
8c	243	256(+)	248	233(-)	223	217(+)	212

Die Differenz ist unabhängig von der Konzentration und (in der Reihe: Chloroform-Tetrahydrofuran-Dimethylsulfoxid) nur unwesentlich vom Lösungsmittel abhängig. Die Ursachen des Effektes sind also intramolekulare Kräfte. Konfigurationsunterschiede an den Zentren C-1' und C-4' können ausgeschlossen werden<sup>8)</sup>.

Alle Erscheinungen werden zufriedenstellend erklärt, wenn man davon ausgeht, daß bei geschützten und ungeschützten Estern verschiedene Rotamere in Bezug auf die glykosidische C—N-Bindung stabilisiert sind<sup>4)</sup>. Aus der Tatsache, daß nur bei den geschützten Nucleosid-5'-carbonsäureestern die diastereotopen Alkoxy-carbonyl-Protonen eine verschiedene chemische Verschiebung erfahren, folgt, daß nicht die zentrale Chiralität der C-Atome 1'—4' der Ribose, sondern daß die durch die Rotationshinderung um die glykosidische Bindung bedingte konformative Chiralität mit dem großen Purin-Liganden zu einer Verschiebungsdifferenz führt. Diese Chiralität kann nur dann eine hinreichende Wirkung entfalten, wenn die Purinbase möglichst nahe bei der Alkoxy-carbonylgruppe ist.

Der Grund für die starke Konformationsabhängigkeit des Effektes liegt wohl darin, daß von der Alkoxy-carbonylgruppe aus gesehen das innermolekulare „Hintergrundmagnetfeld“ stark vom Anisotropieeffekt des Purins bestimmt wird. Modellbetrachtungen zeigen, daß das freie Elektronenpaar am N-3-Atom des Purins in der Lage ist, mit anderen (elektrophilen) Teilen des Moleküls in Wechselwirkung zu treten. Als Partner kommen in Frage:

a) Bei ungeschützten Estern: Die 2'-Hydroxylgruppe und die 5'-Alkoxy-carbonylgruppe.

b) Bei geschützten Estern nur die 5'-Alkoxy-carbonylgruppe.

Damit ergibt sich für bindende Wechselwirkungen qualitativ der in Abbild. 1 dargestellte Energieverlauf bei Drehung der Base um die glykosidische Bindung.

Berücksichtigt man jedoch elektronische und sterische Abstoßungen, dann müßten mindestens 6 Energiedellen auftreten, deren Zahl, Tiefe und Rotationswinkel außerdem von der Furanosekonformation bestimmt wird. Röntgenstrukturanalysen an Kristallen<sup>9)</sup> und die Zuhilfenahme der van der Waalschen Radien zur Abschätzung der Abstoßungsenergien<sup>10)</sup> lassen erkennen, daß maximal zwei bis drei Konformere beobachtbar oder gar isolierbar sind<sup>11)</sup>.

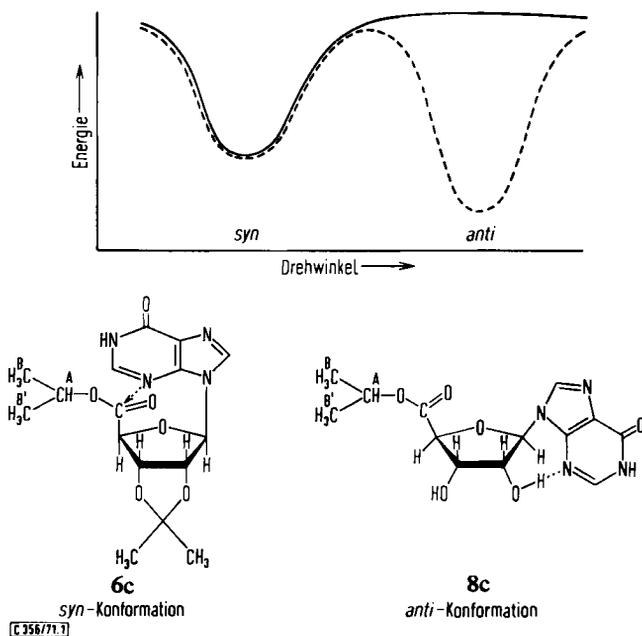
Nur in der *syn*-Konformation ist demnach der magnetische Einfluß des Purins in der Lage, zu einer Trennung der NMR-Resonanzsignale der diastereotopen Alkoxy-

<sup>8)</sup>  $J_{1',2'}$  und  $J_{3',4'}$  sind in allen Fällen klein, was nur mit einer *trans*-Stellung dieser Protonenpaare an der Furanose zu vereinbaren ist.

<sup>9)</sup> M. A. Viswamitra, B. Swaminatha Reddy, G. Hung-Yin Lin und M. Sundaralingam, J. Amer. chem. Soc. **93**, 4565 (1971); dort weitere Literatur.

<sup>10)</sup> A. E. V. Haschemeyer und A. Rich, J. molecular Biol. **27**, 369 (1967).

<sup>11)</sup> Mehr als zwei konformere Nucleoside wurden unseres Wissens bislang noch nicht nebeneinander beobachtet; die Isolierung von zwei Konformeren (gleicher Struktur) wurde noch nicht beschrieben.



Abbild. 1. Konformationsenergie bei Rotation um die glykosidische Bindung in Abhängigkeit von intramolekularen Wechselwirkungen. — geschützte Ester **5, 6**; — ungeschützte Ester **7, 8**

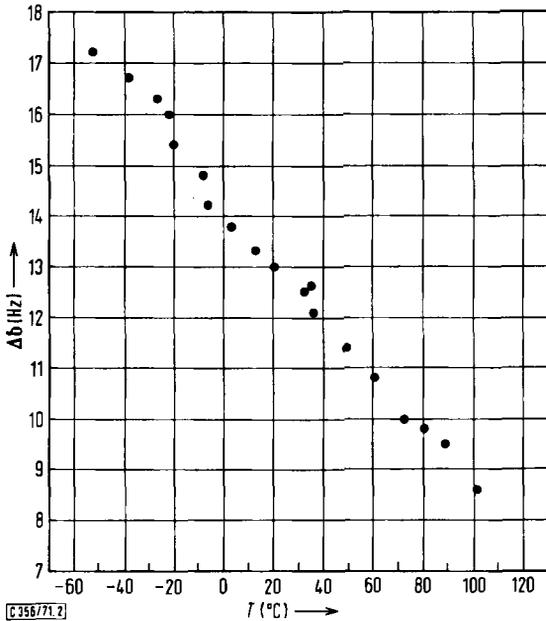
carbonyl-Protonen zu führen. Ein Vergleich der Signale der beiden endständigen Methylgruppen in der Reihe Isopropyl-, Isobutyl-, Isoamylester (**5c, d, e** und **6c, d**) bestätigt die starke Entfernungabhängigkeit des Effekts.

Der 2',3'-*O*-geschützte Ester **6c** und der 2',3'-*O*-ungeschützte Ester **8c** wurden genau untersucht. **8c** zeigt (zumindest) im Temperaturbereich von 30 bis 113° keine Veränderung im NMR-Spektrum der Alkoxy-carbonylgruppe. Die Substanz liegt demzufolge im gesamten Temperaturbereich vorwiegend in der *anti*-Konformation vor. Für die Temperaturabhängigkeit der Differenz der chemischen Verschiebung der diastereotopen Methylgruppen CH<sub>3</sub><sup>B</sup> und CH<sub>3</sub><sup>B'</sup> bei **6c** ist im Idealfall ein Kurvenverlauf mit zwei aneinandergeschlossenen S-förmigen Teilstücken zu erwarten<sup>12)</sup>. Das S-Teilstück bei tiefer Temperatur entspricht dem „Anspringen“ der sterisch gehinderten inneren Rotation der Estergruppe, das S-Teilstück bei höherer Temperatur folgt aus der Anregung der inneren Rotation um die glykosidische Bindung. In dem für die NMR-Messung zugänglichen Bereich wird der in Abbild. 2 dargestellte Verlauf beobachtet.

Die Veränderung der Differenz der chemischen Verschiebung bis zu hohen Temperaturen sowie die qualitativ gleichen Verhältnisse bei den sterisch weniger gehinderten Äthylestern **5b** und **6b** sind ein Zeichen dafür, daß die experimentelle Kurve

<sup>12)</sup> D. W. Slocum und F. Stonemark, Tetrahedron Letters [London] **35**, 3291 (1971); dort weitere Literaturhinweise.

ein Ausschnitt aus dem S-Teilstück bei höherer Temperatur oder eine nichttrennbare Überlagerung beider S-Teilstücke ist. Eine einfache Ermittlung der Rotationsbarrieren erlaubt dieser Kurvenverlauf nicht.



Abbild. 2. Differenz der chemischen Verschiebung von  $\text{CH}_3^B$  und  $\text{CH}_3^{B'}$  in **6c** (Lösungsmittel: Tetrahydrofuran)

Die Ergebnisse aus den NMR-Messungen werden durch weitere spektroskopische Untersuchungen gestützt:

1. Die ORD-Spektren von **6c** und **8c** sind deutlich verschieden. Der jeweils erste Cotton-Effekt hat umgekehrtes Vorzeichen. Dies sind unseres Wissens die ersten Untersuchungen über das Problem der Nucleosid-Konformation, bei denen die ORD-Methode mit anderen spektroskopischen Methoden korreliert wurde.

2. Wenn die aufgefundenen bevorzugten Konformationen in Lösung auch im festen Zustand<sup>13)</sup> eingenommen werden, so sollte bei den geschützten Estern infolge der möglichen Wechselwirkung der Carbonylgruppe mit der heterocyclischen Base (siehe Abbild. 1) die 5'-Carbonyl-Valenzschwingung im IR-Spektrum (KBr-Preßlinge) gegenüber den ungeschützten Estern zu kleineren Wellenzahlen verschoben sein. Dies wird im allgemeinen beobachtet (Tab. 1).

Diese Untersuchungen zeigen, daß eine Entscheidung zwischen *syn*- und *anti*-Konformeren bei Purin-Nucleosiden auf NMR-spektroskopischem Wege dann leicht getroffen werden kann, wenn in 5'-Stellung Gruppen mit diastereotopen Protonen

<sup>13)</sup> Die außerordentlich geringe Löslichkeit der ungeschützten Ester **7** und **8** erschwert Untersuchungen in Lösung.

stehen oder eingeführt werden. Dazu sollte sich im Prinzip auch das 5'-Zentrum der natürlichen Nucleoside selbst eignen, das eine Hydroxymethylgruppe mit zwei diastereotopen Protonen darstellt. Die Schwierigkeit liegt hierbei in der Auflösung des komplexen Resonanzsignals.

Wir danken Herrn Prof. Dr. H. Bredereck für die Förderung dieser Arbeit. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die finanzielle Unterstützung unserer Untersuchungen und den Papierwerken Waldhof-Aschaffenburg für die Überlassung von Ausgangsmaterialien. Weiterhin gilt unser Dank Herrn Prof. Dr. F. Lingens (Universität Hohenheim) für die freundliche Unterstützung unserer ORD-Untersuchungen sowie den Herren Dr. K.-H. Altendorf und Dipl.-Biochem. H.-D. Harders für die Aufnahme der ORD-Spektren.

### Beschreibung der Versuche

Für die spektroskopischen Untersuchungen wurden folgende Geräte verwendet:

- NMR: Varian A 60 mit „variable temperature controller V 6040“.
- ORD: Cary 60.
- IR: Perkin Elmer Spektrophotometer 221.

Tab. 3. Hergestellte Nucleosid-5'-carbonsäureester

Verbin- dung	Methode	Alkylierungsmittel	Reaktions- zeit	Ausb. [%]	Schmp.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse			
							Ber. Gef.	C	H	N
5a <sup>6)</sup>	C	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6 Std.n.	75.7	244°	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (335.3)	50.20 49.99	5.12 5.16	20.92 21.13	
5b	C	(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20 Std.n.	60.3	168–169°	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (349.5)	51.60 51.73	5.44 5.52	20.08 20.15	
5c	A	HOCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2 Tage	74.5	114°	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (363.4)	52.88 52.69	5.83 5.74	19.28 18.99	
5d	C	BrCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2 Tage	10.6	82–84°	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (377.4)	54.10 53.24	6.14 5.79	18.56 17.52	
5e	A	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	8 Tage	58.8	84°	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (391.4)	55.29 50.16	6.44 6.44	17.80 17.70	
6a	C	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 Tage	85	182°	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (336.3)	50.00 49.85	4.80 4.71	16.66 16.60	
6b	C	(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20 Std.n.	60	208–209°	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (350.3)	51.42 51.56	5.18 5.19	15.99 15.72	
6c	A	HOCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2 Tage	75	221°	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (364.3)	52.74 52.54	5.53 5.45	15.38 15.13	
6d	A	HOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	26 Std.n.	36.6	182–184°	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (378.4)	53.96 53.75	5.86 5.77	14.81 14.93	
7a <sup>6)</sup>	A	HOCH <sub>3</sub>	4 Std.n.	95.4	217°	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (295.2)	44.74 44.59	4.44 4.36	23.72 23.43	
7b <sup>6)</sup>	A	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	15 Std.n.	82.5	218°	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (309.3)	46.67 46.89	4.88 4.78	22.65 22.73	
7c	C	BrCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	20 Std.n.	13.9	208°	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> ·H <sub>2</sub> O (341.3)	45.70 45.90	5.56 5.96	20.49 20.61	
7d	A	HOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4 Tage	77.5	178–180°	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (337.3)	49.84 49.79	5.68 5.67	20.76 20.49	
7e	A	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4 Tage	85.9	156–158°	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> (351.4)	51.27 51.40	6.02 5.98	19.93 19.68	
8a	A(B)	HOCH <sub>3</sub>	6 Std.n.	71 (60)	222°	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (296.2)	44.60 44.18	4.08 4.11	18.91 18.53	
8b	B	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	12 Std.n.	45	227–229°	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (310.3)	46.45 46.25	4.55 4.65	18.06 18.13	
8c	A	HOCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	12 Std.n.	45		C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (324.3)	48.15 47.99	4.97 4.89	17.28 17.06	

*Darstellung der Nucleosid-5'-carbonsäureester*

*Methode A:* Man suspendiert 1 mMol **1**, **2**, **3** und **4** in 15 ccm absol. *Alkohol* und setzt unter Rühren und Kühlen 0.15 ccm *Thionylchlorid* zu. Man entfernt die Kühlung und rührt unter Wasserausschluß. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach Beendigung gießt man die Mischung in eine Lösung von 672 mg (8 mMol) *Natriumhydrogencarbonat* in 20 ccm Wasser. Mischt sich der Alkohol nicht mit Wasser, so wird die Suspension 3 mal mit Äther extrahiert, der Extrakt mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Mischt sich der Alkohol mit Wasser, so fällt der Ester analysenrein aus und wird abfiltriert. Zur Erhöhung der Ausb. kann das Filtrat ausgeäthert und der ätherische Extrakt wie oben aufgearbeitet werden. Alle *Ester* sind aus Äthanol ohne Umesterung umkristallisierbar.

*Methode B:* Man setzt 1 mMol **1** bzw. **2**, wie unter Methode A angegeben, um. Man isoliert die *Ester* von **3** bzw. **4**.

*Methode C:* 1 mMol **1**, **2**, **3** oder **4** werden mit 10 ccm 0.1 n *KOH* neutralisiert. Das nach Abdampfen der Lösung sorgfältig getrocknete *Kaliumsalz* wird in 15 ccm absol. Dimethylformamid mit 2 Äquivv. Alkylierungsmittel versetzt. Die Lösung wird bei Raumtemp. gerührt und der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach Beendigung der Reaktion konzentriert man die Lösung i. Vak., versetzt mit Wasser und neutralisiert mit Natriumhydrogencarbonat. Die *Ester* fallen analysenrein aus.

[356/71]