

Die Stereoselektivität bei der Synthese von 5'-*N*-substituierten 5'-Amido-Analoga des Adenosin-3',5'-cyclophosphat-*p*-nitrophenylesters

Akira Murayama, Bernd Jastorff, Hans Hettler und Friedrich Cramer*

Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Abteilung Chemie,
D-3400 Göttingen, Hermann-Rein-Straße 3

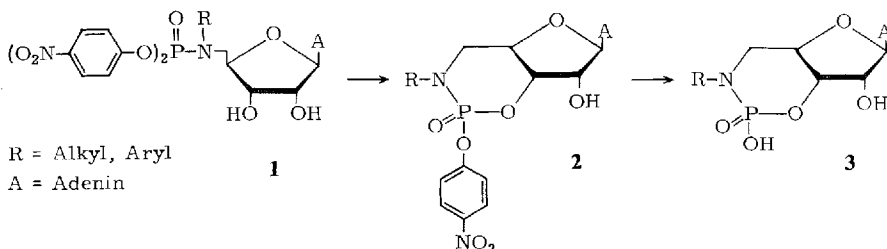
Eingegangen am 1. Juni 1973

Die basenkatalysierte Ringschlußreaktion von *N*-(5'-Desoxy-5'-adenosyl)-*N*-octylphosphorsäure-bis(*p*-nitrophenylester)-amid (**1**, R = *n*-Octyl) führt stereoselektiv zu 5'-Desoxy-5'-(octylamino)adenosin-3'-phosphorsäure-*p*-nitrophenylester-3',5'-cycloamid (**2a**). Es kann durch Behandlung mit *p*-Nitrophenolat-Ion in das Diastereomere **2b** übergeführt werden. Die Konfiguration am chiralen Phosphoratom wurde aufgrund des Reaktionsmechanismus abgeleitet und durch NMR-Spektren bestätigt.

The Stereoselectivity of the Synthesis of 5'-*N*-Substituted 5'-Amido Analogs of Adenosine-3',5'-cyclophosphate *p*-Nitrophenyl Ester

The base-catalysed cyclization of bis(*p*-nitrophenyl) *N*-(5'-deoxy-5'-adenosyl)-*N*-octylphosphoramidate (**1**, R = *n*-octyl) gives stereoselectively 5'-deoxy-5'-(octylamino)adenosin-3'-phosphoric acid *p*-nitrophenyl ester 3',5'-cycloamide (**2a**). It can be converted into its diastereomer **2b** by treatment with *p*-nitrophenolate ion. The configuration of the chiral phosphorus atom was derived from the reaction mechanism and was confirmed through n.m.r. spectra.

Kürzlich haben wir über die Synthese von 5'-Amido-Analoga des Adenosin-3',5'-cyclophosphates (cAMP) berichtet^{1,2}. Dabei fanden wir, daß diese Verbindungen unter alkalischen Bedingungen aus *N*-Alkyl- bzw. *N*-Aryl-*N*-(5'-desoxy-5'-adenosyl)-phosphorsäure-bis(*p*-nitrophenylester)-amiden (**1**) in einer Zweistufenreaktion entstehen. Im ersten Schritt bildet sich durch Umesterung das ungewöhnliche cyclische Diesteramid **2**, aus dem durch anschließende Hydrolyse die zweite Nitrophenylgruppe unter Bildung von **3** abgespalten wird³.



¹) A. Murayama, B. Jastorff und H. Hettler, *Angew. Chem.* **82**, 666 (1970); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **9**, 640 (1970).

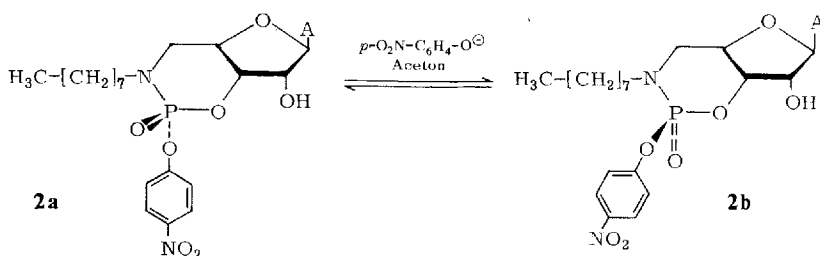
²) A. Murayama, B. Jastorff, F. Cramer und H. Hettler, *J. Org. Chem.* **36**, 3029 (1971).

³) Die gleiche Cyclisierungsreaktion wird auch bei Thymidin-Analoga beobachtet: *Merck GmbH Patent* (Erf. A. Murayama, H. Hettler und B. Jastorff), D.O.S. 2032436, 12. Jan. (1972) [*C. A.* **76**, 99 996 h (1972)].

Eine genaue chromatographische Untersuchung der Cyclisierung von **1** ($R = n$ -Octyl) zu **2** in Aceton/1 N NaOH (10:1) ergab, daß nach 2stdg. Reaktionszeit ein Hauptprodukt und eine kleine Menge eines Nebenproduktes entstanden waren. Die Verbindungen wurden durch präparative Schichtchromatographie auf Kieselgel isoliert.

Ein Vergleich ihrer chemischen und spektroskopischen Eigenschaften (UV-, Massen- und NMR-Spektren) zeigte eindeutig, daß es sich dabei um Diastereomere der Verbindung **2** ($R = n$ -Octyl) handelte, die sich nur hinsichtlich ihrer Konfiguration am Phosphoratom unterschieden (**2a** bzw. **2b**).

Behandelte man ein einheitliches Diastereomeres mit einem Überschuß von Natrium-*p*-nitrophenolat in Aceton bei Raumtemperatur, stellte sich nach 20 Tagen ein äquimolares Gleichgewicht der beiden Diastereomeren ein.



Ging man von dem anderen Isomeren aus, beobachtete man dieselbe Gleichgewichtseinstellung. Auch bei diesem Versuch wurden jeweils beide Derivate isoliert und ihre Struktur eindeutig charakterisiert.

Die Cyclisierungsreaktion von **1** zu **2** ($R = n$ -Octyl) scheint stereoselektiv zu verlaufen. Wir möchten im folgenden versuchen, die Ursache dieses Verhaltens anhand eines möglichen Reaktionsmechanismus der Cyclisierung und unter Einbeziehung der chemischen und spektroskopischen Eigenschaften der beiden Diastereomeren zu diskutieren.

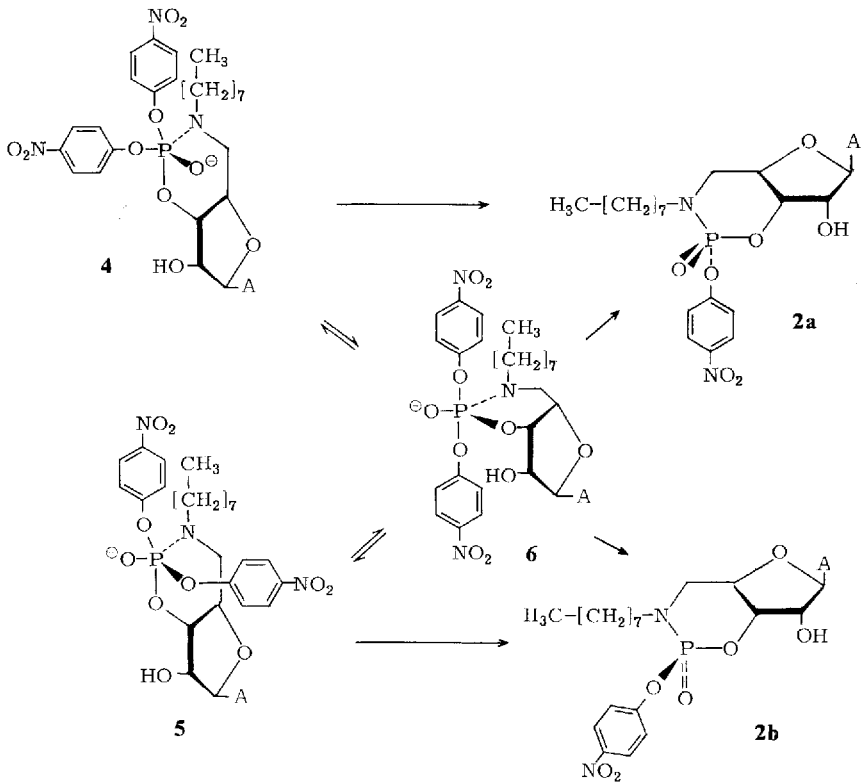
In einer Reihe von ausführlichen Übersichtsartikeln haben Ugi et al. über den komplexen Ablauf nucleophiler Reaktionen am tetrakoordinierten Phosphor(V)-Atom berichtet⁴⁻⁶. Danach verlaufen Austauschreaktionen im Normalfall über pentakoordinierte Oxidophosphoran-Zwischenstufen⁶, die wiederum eine Vielzahl von Umordnungsprozessen regulärer oder irregulärer Art durchlaufen können⁵.

Für den Fall der Cyclisierung von **1** zu **2** sollten danach bei nucleophilem Angriff des 3'-Sauerstoffs auf den Phosphor zunächst die beiden Oxidophosphoran-Zwischenstufen **4** bzw. **5** entstehen können.

⁴ I. Ugi, D. Marquarding, H. Klusacek, G. Gokel und P. Gillespie, *Angew. Chem.* **82**, 741 (1970); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **9**, 703 (1970).

⁵ P. Gillespie, P. Hoffmann, H. Klusacek, D. Marquarding, S. Pfohl, F. Ramirez, E. A. Tsolis und I. Ugi, *Angew. Chem.* **83**, 691 (1971); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **10**, 687 (1971).

⁶ D. Marquarding, F. Ramirez, I. Ugi und P. Gillespie, *Angew. Chem.* **85**, 99 (1973); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **12**, 91 (1973).



Diese könnten entweder sofort unter Austritt der apicalen Nitrophenylgruppe zu **2a** bzw. **2b** zerfallen oder sich durch Permutationsisomerisierung am Phosphor umwandeln⁶⁾. Nach den Regeln über die Stabilität pentakoordinierter Oxidophosphorane⁶⁾ sollte dabei die Zwischenstufe **6** große Bildungswahrscheinlichkeit besitzen, denn der 6-Ring ist diäquatorial angeordnet und die elektronegativsten Gruppen sitzen in den apicalen Positionen. Während **4** bzw. **5** quantitativ in die jeweiligen Diastereomeren **2a** bzw. **2b** zerfallen, würden aus **6** zu gleichen Teilen **2a** und **2b** entstehen.

Korreliert man diesen Mechanismus mit dem experimentellen Verlauf der Reaktion, wird offensichtlich, daß eines der Oxidophosphorane **4** bzw. **5** bevorzugt gebildet wird und daß dessen Zerfall mehr begünstigt ist als seine Isomerisierung zu z. B. **6**, denn nur so läßt sich die hohe Stereoselektivität erklären. Die geringfügige Bildung des zweiten Isomeren könnte entweder über eine direkte aber weniger begünstigte Bildung des entsprechenden Oxidophosphorans vom Typ **4** oder **5** entstehen, oder durch Permutationsisomerisierung der bevorzugt gebildeten Zwischenstufe; möglich wäre aber auch eine nachträgliche Isomerisierung des cyclischen Diesteramids vom Typ **2a** bzw. **2b** über die Zwischenstufe **6**, wobei *p*-Nitrophenolat diese Umwandlung katalysieren würde. Die experimentell nachgewiesene Isomerisierung von **2a** bzw. **2b** in Anwesenheit eines großen Überschusses an *p*-Nitrophenolat verläuft sicherlich auf diesem Wege.

Der Reaktionsmechanismus der Cyclisierung bietet erste Hinweise auf die absolute Konfiguration des Haupt- bzw. Nebenproduktes am Phosphoratom.

Modelle der Oxidophosphoran-Zwischenstufen **4** und **5** zeigen nämlich, daß einer Bildung von **5** eine starke sterische Hinderung zwischen der zweiten *p*-Nitrophenylgruppe und der Ribose entgegensteht, während bei **4** eine derartige Wechselwirkung nicht möglich ist. Danach könnte **4** die bevorzugte Zwischenstufe sein. Da **4** in **2a** umgewandelt wird, sollte die absolute Konfiguration der Hauptverbindung am Phosphoratom der von **2a** entsprechen. Während der Reaktionsmechanismus nur einen indirekten Hinweis auf die absolute Konfiguration des Hauptproduktes liefert, geben die NMR-Spektren der beiden Diastereomeren (s. Tab.) einen direkteren Hinweis auf die Richtigkeit der obigen Annahme. Und zwar findet man einen charakteristischen Unterschied der chemischen Verschiebung für 4'-H. Beim Hauptprodukt erscheint es bei 0.4 ppm niedrigerem Feld. Wie aus Kalottenmodellen der Diastereomeren **2a** und **2b** hervorgeht, erlaubt nur die Konfiguration in **2a** eine Beeinflussung von 4'-H durch die *p*-Nitrophenylgruppe. Die starke Verschiebung zu niedrigerem Feld könnte durch den Anisotropieeffekt des aromatischen Ringsystems hervorgerufen werden⁷⁾. Die Konfiguration der Reste in Verbindung **2b** bietet dagegen keine Wechselwirkungsmöglichkeiten mit 4'-H, die eine Verschiebung zu niedrigerem Feld verursachen würden.

Diese Argumente machen sehr wahrscheinlich, daß die Stereoselektivität der Cyclisierung von **1** zu **2** (R = n-Octyl) durch sterische Hinderung bei der Bildung und Permutation der Oxidophosphoran-Zwischenstufen ausgelöst wird und daß dem Hauptprodukt der Reaktion die absolute Konfiguration **2a**, dem Nebenprodukt die von **2b** zuzuschreiben ist.

Wir danken Herrn Dr. H. M. Schiebel, Stöckheim, für die Messung der NMR- und Massen-Spektren, Herrn Dr. D. Gauss, Göttingen, für die Mithilfe bei der Abfassung des Manuskriptes und Herrn F. Tlatlik für die Mitarbeit bei der Ausführung der Experimente.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen

UV-Spektren wurden mit dem Gerät Cary 14, Massen-Spektren mit dem Gerät AEI-MS-9 bei 70 eV und NMR-Spektren mit dem Gerät Varian HA-100 in Dimethylsulfoxid bzw. Deuteriomethanol (interner Standard Tetramethylsilan) gemessen. Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind nicht korrigiert. Analytische DC wurde auf Silicagel-Dünnschichtplatten F₂₅₄ (Merck, Darmstadt), PSC mit PSC-Fertigplatten F₂₅₄ (Merck, Darmstadt) durchgeführt; zum Nachweis diente die Absorption unter einer UV-Lampe bei 256 und 360 nm und die Farbreaktion des *p*-Nitrophenols mit 1 N NaOH nach Erwärmen. Bei der Säulenchromatographie an Kieselgel 0.05–0.2 mm (Merck, Darmstadt) wurde ein LKB-Fraktionssammler mit einem Uvicord UV-Analysator verwendet.

Die Ausgangsverbindung *N*-(5'-Desoxy-5'-adenosyl)-*N*-octylphosphorsäure-bis(*p*-nitrophenylester)-amid (**1**, R = n-Octyl) wurde gemäß l. c.²⁾ dargestellt.

*Darstellung der Diastereomeren des 5'-Desoxy-5'-(octylamino)adenosin-3'-phosphorsäure-*p*-nitrophenylester-3',5'-cycloamid (2a bzw. 2b):* 0.8 g (1.14 mmol) **1** in 100 ml Aceton wurden

⁷⁾ F. A. Bovey, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, S. 64, Academic Press, New York 1969.

nach Zugabe von 10 ml 1 N NaOH 2 h bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Neutralisieren mit Essigsäure wurde das Gemisch am Rotationsverdampfer i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser/Chloroform aufgenommen, die organischen Phasen nach Trocknen mit Na₂SO₄ eingedampft und der Rückstand an 250 g Kieselgel in einer Säule chromatographiert. Nach der Abtrennung von *p*-Nitrophenol durch Waschen mit Chloroform wurde anschließend mit dem Lösungsmittelsystem Chloroform/Methanol (98:2, v/v) zunächst das Nebenprodukt **2b** und danach das Hauptprodukt **2a** isoliert. Die Fraktionen von **2a** bzw. **2b** wurden zur Trockne eingengt. **2a** wurde in wenig Essigester aufgenommen und durch langsames Eindunstenlassen zu farblosen Nadeln kristallisiert. Da **2b** auf diesem Wege nicht in Kristalle zu überführen war, wurde es in wenig Chloroform gelöst und mit Äther als farbloses Pulver ausgefällt. Ausb. 625 mg (90%) **2a**, Schmp. 168°C.

Dünnschichtchromatographie in Chloroform/Methanol (9:1, v/v) *R_F* 0.65. — UV (Methanol): λ_{max} = 262 nm (ε = 22000). — MS: 561 (<1%, M⁺); 139 (78%, *p*-Nitrophenol); 136 (100%, Base + 2). NMR-Spektrum: s. Tab.

C₂₄H₃₂N₇O₇P (561.5) Ber. C 51.33 H 6.75 N 17.47 Gef. C 51.35 H 6.80 N 17.52

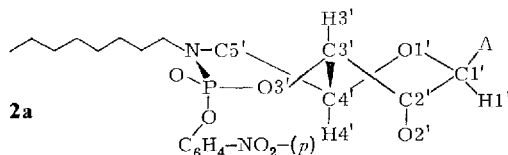
Das Nebenprodukt (Ausb. ≈ 10%) ist bei der Isomerisierung charakterisiert.

Isomerisierung von 2a bzw. 2b: Zur Lösung von 202 mg (0.36 mmol) **2a** bzw. 50 mg (0.09 mmol) **2b** in 100 ml bzw. 25 ml Aceton wurden 600 mg (3.73 mmol) bzw. 125 mg (0.93 mmol) Natrium-*p*-nitrophenolat gegeben und dazu wenig Methanol getropft, bis alles Nitrophenolat gelöst war. Das Gemisch wurde bei Raumtemp. 24 d stehengelassen. Nach Zugabe von 0.1 ml bzw. 0.025 ml Eisessig wurden die Reaktionsmischungen i. Vak. eingedampft und der Rückstand, wie oben beschrieben, an einer Kieselgelsäule bzw. durch PSC im System Chloroform/Methanol (9:1) aufgetrennt. Ausb. **2b**: 91 mg (45%), **2a**: 90 mg (45%) bzw. **2a**: 23 mg (46%), **2b**: 22 mg (44%).

Charakterisierung von 2b: Schmp. 158°C. Dünnschichtchromatographie in Chloroform/Methanol (9:1, v/v) *R_F* 0.70. — UV (Methanol): λ_{max} = 262 nm (ε = 21000). — MS: 561 (<1%, M⁺); 139 (90%, *p*-Nitrophenol); 135 (100%, Base + 1). NMR-Spektrum: s. Tab.

C₂₄H₃₂N₇O₇P (561.5) Ber. C 51.33 H 6.75 N 17.47 Gef. C 51.41 H 6.70 N 17.43

¹H-NMR-Spektren (δ in ppm) der Substanzen **2a** und **2b**. Kopplungskonstanten in Hz



Substanz	Base		<i>p</i> -Nitrophenyl-Rest		Ribose					Octyl-Rest	
	8-H	2-H	H _α	H _β	1'-H	2'-H	3'-H	4'-H	5'-H	[CH ₂] ₇	CH ₃
2a	8.32 s	8.18 s	8.26 d, 8.5 Hz	7.50	6.07 s	4.85 d, 5 Hz	5.27 m	4.58 m	3.58 m	1.24 m	0.82 t, 3 Hz
2b	8.36 s	8.25 s	8.37 d, 8.5 Hz	7.61	6.05 s	4.70 d, 5 Hz	5.28 m	4.18 m	3.5 m	1.24 m	0.85 t, 3 Hz