

Nucleotide, IV¹⁾**Stereochemie von Diuridyl-phenylphosphaten**Gunther Reitz^{1a)} und Wolfgang Pfeleiderer*

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz,
D-7750 Konstanz, Postfach 7733

Eingegangen am 26. Februar 1975

Die Stereochemie verschiedenartig substituierter Diuridyl-(2' → 5'), -(3' → 5'), -(2' → 2'), -(3' → 3')- und -(5' → 5')-phenylphosphate wird anhand ihrer spektroskopischen Eigenschaften und der Unterschiede in den NMR-Spektren diastereomerer Diuridyl-phenylphosphate sowie entsprechender Verbindungen mit zwei zueinander diastereotopen Uridylgruppen diskutiert. Die CD-Spektren 2'-O-benzyl-substituierter Diuridylphosphate deuten auf eine räumliche Überlagerung von Uracil- und Benzylgruppe im Sinne eines „stacking“-Effektes hin.

Nucleotides, IV¹⁾**Stereochemistry of Diuridyl-phenylphosphates**

The stereochemistry of various substituted diuridyl-(2' → 5'), -(3' → 5'), -(2' → 2'), -(3' → 3')- and -(5' → 5')-phenylphosphates is discussed on the basis of their spectroscopic properties and the differences in n.m.r. spectra of diastereomeric diuridyl-phenylphosphates as well as of corresponding compounds with two diastereotopic uridyl groups. The c.d. spectra of 2'-O-benzyl-substituted diuridylphosphates indicate a stacking-effect of the uracil- and benzyl-moiety.

Stereoisomere Verbindungen lassen sich formal durch eine Permutation an sogenannten achiralen Simplexen ableiten^{2,3)}. Von Interesse sind in unserem Fall Verbindungen mit einem Chiralitätszentrum, das bei den Diuridyl-phenylphosphaten durch das Phosphor-

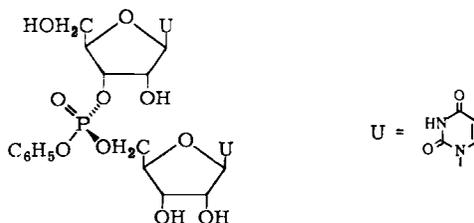


Abb. 1. Phosphor als Chiralitätszentrum in Diuridyl-phenylphosphaten

¹⁾ III. Mittel.: G. Reitz und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 108, 2878 (1975), vorstehend. — ^{1a)} Teil der Dissertation G. Reitz, Univ. Konstanz 1973.

²⁾ V. Prelog und G. Helmchen, Helv. Chim. Acta 55, 2581 (1972).

³⁾ G. Helmchen und V. Prelog, Helv. Chim. Acta 55, 2599, 2612 (1972).

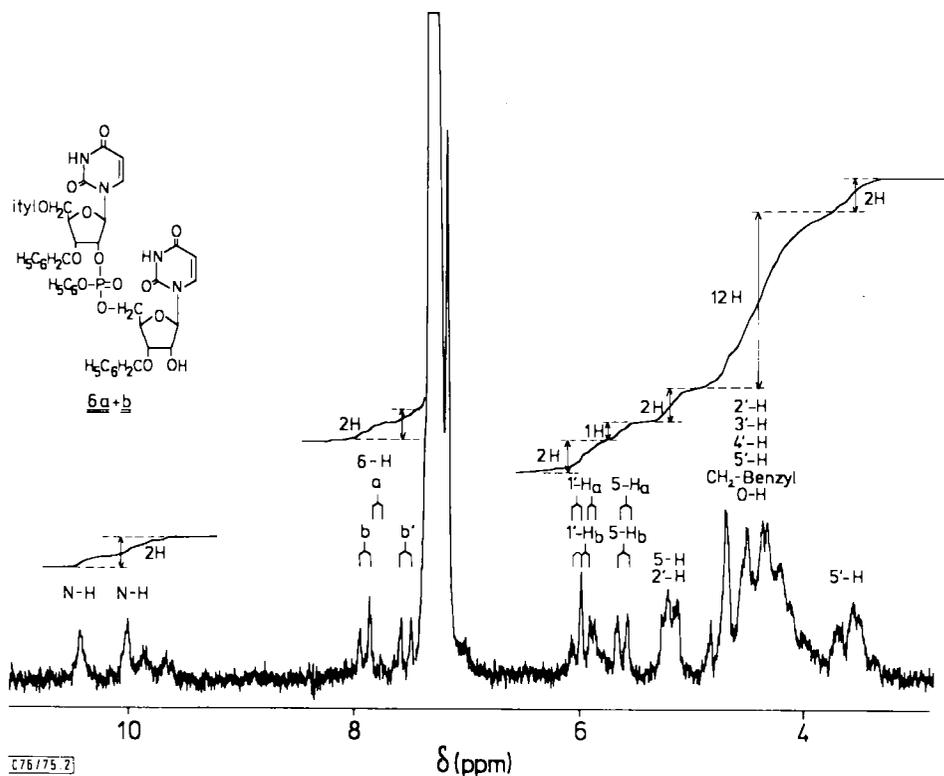


Abb. 2. 90-MHz-NMR-Spektrum des 3'-O-Benzyl-5'-O-trityluridylyl-(2' → 5')-3'-O-benzyl-uridin-phenylesters (6a + b) in CDCl_3

Die Existenz eines Diastereomergemisches läßt sich dabei am einfachsten aus den 6-H-, 1'-H- und manchmal auch aus den NH-Signalen ersehen, da sie normalerweise von den komplexen Multipletts der übrigen Protonen abgesetzt sind.

Festlegung und Zuordnung der Signale basieren auf eingehenden Doppelresonanz-Experimenten und sind in Tab. 1 numerisch zusammengefaßt.

Die chromatographische Auftrennung der Diastereomergemische in die Komponenten a und b gelingt, wie früher dargelegt²⁾, nur in Einzelfällen und führte bislang lediglich bei 3, 4 und 6 zum Erfolg. Die Einheitlichkeit der getrennten Diastereomeren läßt sich nicht nur chromatographisch demonstrieren, sondern wird auch an dem NMR-Spektrum deutlich (Abb. 3 und 4).

Bezieht man die CD-Spektren in die Betrachtungen mit ein, so muß man sich darüber im klaren sein, daß in einem Diastereomerenpaar jeweils nur eines von mehreren Chiralitätszentren im Molekül gespiegelt ist. Wenn die sterischen Unterschiede auch noch in einem räumlich vom Chromophor des Systems weit entfernten Zentrum, wie hier im Phosphoratom, lokalisiert sind, dann darf nicht erwartet werden, daß ein Vergleich der CD-Spektren

Tab. 1. NMR-Daten von Uridyl-uridin-Derivaten (δ -Werte in ppm; TMS interner Standard; 90 MHz)

Verbindung	N-H	6-H $J_{5,6}$ 8 Hz	5-H $J_{5,6}$ 8 Hz	1'-H	$J_{1,2'}$	2'-H	3'-H	4'-H	5'-H	Benzyl- CH ₂	Lösungs- mittel
1	9.89 bs 9.99 bs	6.93 d 7.62 d	5.14 d 5.40 d	5.89 d 6.14 d 5.99 d	5 Hz 4 Hz 5 Hz	4.03 m	5.14 m	4.0-4.44 m	3.56 s 4.0-4.44 m	4.58 q	CDCl ₃
2	9.44 bs	7.13 d 7.37 d	5.14 d 5.49 d	5.82 d 6.12 d 5.93 d	3 Hz 4 Hz 3 Hz	3.98 m 4.26 m	3.8-4.5 m 5.14 m	3.8-4.5 m	3.56 s 3.8-4.5 m 3.39 s	4.66 m	CDCl ₃
3a	9.1-9.8	7.18 d 7.39 d	5.49 d 5.81 d	5.82 d 5.86 d	6 Hz 6 Hz	4.18 m 4.4 m	5.14 m	4.06-4.8 m	3.67 m 4.06-4.8 m	4.06-4.8 m	CDCl ₃
3b	9.61 d	7.07 d 7.52 d	5.57 d	5.82 d	4 Hz	4.3 m	5.17 m	4.05-4.7 m	3.89 m 4.05-4.7 m	4.56 m	CDCl ₃
4a	9.3-10.4	7.52 d 7.70 d	5.5 d	6.0 d 6.1 d	4 Hz 6 Hz	4.16 m 4.39 m	4.0-4.6 m 5.20 m	4.0-4.6 m	3.89 m 4.0-4.6 m	4.73 m	[D ₆]Aceton
4b	10.1 s	7.44 d 7.73 d	5.5 d 5.48 d	5.97 d 6.07 d	4 Hz 6 Hz	4.16 m 4.37 m	4.0-4.7 m 5.21 m	4.0-4.7 m	3.56-3.94 m 4.0-4.7 m	4.67 m	[D ₆]Aceton/ CDCl ₃ (1/1)
5	9.67 bs 10.28 bs 9.53 bs 9.67 bs	7.53 d 7.84 d	5.2 m 5.6 d	6.07 d 5.99 s 5.88 d	2 Hz 0.5 Hz 4 Hz	5.2 m	4.0-5.3 m	4.0-5.3 m	3.56 s 4.0-5.3 m	4.0-5.3 m	CDCl ₃
6a	9.7 s	7.33 d 7.78 d	5.2 d 5.61 d	5.76 d 6.04 d	4 Hz 3 Hz	4.16 m 5.2 m	3.9-4.4 m	3.9-4.4 m	3.72 m 3.9-4.4 m	4.56 m	CDCl ₃
6b	9.8-10.9	7.55 d 7.87 d	5.17 d 5.62 d	5.87 d 5.98 d	4 Hz 2 Hz	4.33 m 5.17 m	4.4 m	4.0-4.6 m	3.72 m	4.59 q	CDCl ₃
7	9.8-10.5	7.66 d 8.04 d 7.52 d 8.01 d	5.58 m	6.02 d 6.12 d 5.92 d 6.10 d	4 Hz 4 Hz 4 Hz 4 Hz	5.44 m 5.34 m 5.40 m	4.1-4.9 m	4.1-4.9 m	3.89 m	4.58 q	[D ₆]Aceton
8	11.1 bs	6.6 d 7.0 d 6.34 d 6.94 d	5.48 d 5.59 d 5.48 d 5.57 d	5.86 d 6.07 d	5 Hz 4 Hz	4.31 m 5.23 m	4.0-4.5 m	4.0-4.5 m	3.50-3.9 m 4.0-4.5 m	6.62 m	[D ₆]DMSO/ CDCl ₃ (1/1)
9	9.57 bs	7.07 d 7.11 d	5.5 d	5.90 d 5.92 d	3 Hz 3 Hz	4.27 m	5.21 t	4.1-4.67 m	4.1-4.67 m	4.1-4.67 m	CDCl ₃

Tab. 1 (Fortsetzung)

Verbindung	N-H	6-H $J_{5,6}$ 8 Hz	5-H $J_{5,6}$ 8 Hz	1'-H	$J_{1,2}$	2'-H	3'-H	4'-H	5'-H	Benzyl- CH ₂	Lösungs- mittel
10	10.1 bs	7.31 d	5.66 d	5.81 d	3 Hz	5.39 q	4.28 m	4.06-4.67 m	4.06-4.67 m	4.06-4.67 m	CDCl ₃
11	10.1 bs	7.46 d 7.49 d	5.51 d 5.54 d	5.96 d	3-4 Hz	4.24 m	4.0-4.7 m	4.0-4.7 m	4.0-4.7 m	4.70 d	[D ₆]Aceton CDCl ₃ (1/1)
12	11.39 d	7.57 d 7.59 d	5.61 m	5.83 d	5 Hz	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	3.82-4.0 m	4.61 q	[D ₆]DMSO
13	9.69 bs	7.40 d 7.42 d	5.12 d	6.02 d 6.16 d	6 Hz 6 Hz	4.22 m	5.0-5.22 m	4.0-4.4 m	3.36 m	4.56 s	CDCl ₃
14	10.1 bs	7.68 d 7.80 d	5.46 d 5.53 d	6.11 d	7 Hz	4.31 m	5.28 d	4.27 m	3.83 bd	4.64 q 4.72 q	[D ₆]Aceton CDCl ₃ (3/2)
15	11.41 bd	7.66 d 7.81 d	5.17 d 5.24 d	5.98 d 6.02 d	2 Hz 2 Hz	5.46 m	4.34 m	4.05 m	3.3 bs	4.0-4.8 m	[D ₆]DMSO
16	10.3 bs	7.98 d 8.09 d	5.55 d 5.58 d	6.08 d 6.22 d	3 Hz 4 Hz	5.40 m 5.43 m	4.0-4.6 m	4.0-4.6 m	3.89 bs	4.75 q 4.71 q	[D ₆]Aceton
2'-O-Bn-U-(3' → 3') 2'-O-Bn-U	10.9-11.5	7.82 d	5.57 d	5.96 d	6 Hz	4.11	4.0-4.9 m	4.0-4.9 m	3.45-3.78	4.0-4.9 m	[D ₆]DMSO
2'-O-Bn-U-(3' → 5') 2'-O-Bn-U	11.36 s	7.64 d 7.71 d	5.57 d	5.96 d 6.02 d	4 Hz 3 Hz	4.0 m 4.17 m	4.0-5.3 m	4.0-5.3 m	3.33-3.8 m 4.00-5.3 m	4.67 m	[D ₆]DMSO
2'-O-Bn-U-(5' → 5') 2'-O-Bn-U	11.3 s	7.7 d	5.60 d	5.96 s		4.27 m	3.8-4.4 bs	3.8-4.4 bs	3.8-4.4 bs	4.67 m	[D ₆]DMSO
3'-O-Bn-U-(2' → 2') 3'-O-Bn-U	11.3 bs	7.8 d	5.84 d	6.00 d	6 Hz	5.07	4.1 m	3.9-4.2 m	3.58 q	4.6 q	[D ₆]DMSO
3'-O-Bn-U-(2' → 5') 3'-O-Bn-U	11.3 bs	7.64 d 7.91 d	5.62 d 5.64 d	5.87 d 6.04 d	6 Hz 6 Hz	4.3 m 5.1 m	3.8-4.5 m	3.8-4.5 m	3.62 bs 3.8-4.5 m	4.7 m	[D ₆]DMSO
3'-O-Bn-U-(2' → 5') 3'-O-Bn-U	11.3 bs	7.67 d	5.62 d	5.83 d	6 Hz	4.27 m	3.8-4.44 m	3.8-4.44 m	3.8-4.44 m	4.64 q	[D ₆]DMSO

s = Singulett; bs = breites Singulett; d = Dublett; t = Triplett; q = Quadruplett; m = Multipllett.

Tab. 2. CD-Spektren von Uridyl-uridin- und Uridin-Derivaten

Verbindung	λ (nm)	CD-Spektren		Θ	Lösungsmittel
1	225 239 265			+22850 +3000	CH ₃ OH
2	220 235 265			+5000 +2360	CH ₃ OH
3a	205 226 235 267	-37000		+3940 +790	CH ₃ OH
3b	208 225 232 268	-37200		± 0 -4400	CH ₃ OH
4a	208 225 230 268	-37000		± 0 -3100	CH ₃ OH
4b	205 225 230 267	-27500		+3150 ± 0	CH ₃ OH
5	235 265			-1600 +33800	CH ₃ OH
6a	220 233 267			+6300 -2260	CH ₃ OH
6b	220 230 267			+16200 -3150	CH ₃ OH
7	215 220 230 265	-615		-200 -3800	CH ₃ OH
8	215 218 230 267	-200		+300 +4750	CH ₃ OH
9	[230] 265			$[\pm 0]$ +26800	CH ₃ OH
10	232 264			± 0 +17200	CH ₃ OH
11	205 [230] 265	-26800		$[\pm 0]$ +30700	CH ₃ OH
12	215 231 267			-1950 +13700	CH ₃ OH
13	220 235 265			+39700 -2200	CH ₃ OH
14	208 225 235 265	-35700		+2200 +29150	CH ₃ OH
15	237 268			± 0 +38800	CH ₃ OH
16	215 225 235 270	-10300		+750 +52300	CH ₃ OH
	215 224 230 275	-3150		± 0 -4000	CH ₃ OH
				± 0 -3150	H ₂ O
3'-O-Benzyluridylyl- (2' → 2')-3'-O-benzyluridin	205 225 232 265	-73200		± 0 -950	H ₂ O
2'-O-Benzyluridylyl- (3' → 3')-2'-O-benzyluridin	217 222 237 270	-3100		± 0 -6300	H ₂ O
3'-O-Benzyluridylyl- (5' → 5')-3'-O-benzyluridin	212 222 237 270	± 0		+3150 -6300	H ₂ O
3'-O-Benzyluridylyl- (2' → 5')-2'-O-benzyluridin	205 226 236 267	-67000		+950 -1600	H ₂ O
2'-O-Benzyluridylyl- (3' → 5')-2'-O-benzyluridin	211 230 240 267	-86600		+2750 ± 0	H ₂ O
Uridyl-(3' → 5')-uridin	210 242 271	-3200		-7500 +16100	pH 7.2
Uridin-5'-phosphat	215 225 237 270	-6140		-4900 -6300	H ₂ O
Uridin	213 226 238 269	-5350		-3800 -4750	H ₂ O
2'-O-Benzyluridin	203 226 232 267	-43300		± 0 -1570	H ₂ O
3'-O-Benzyluridin	214 222 235 268	-2200		-1900 -3450	H ₂ O
5'-O-Benzyluridin	214 232 239 270	-9500		-5000 -6300	H ₂ O

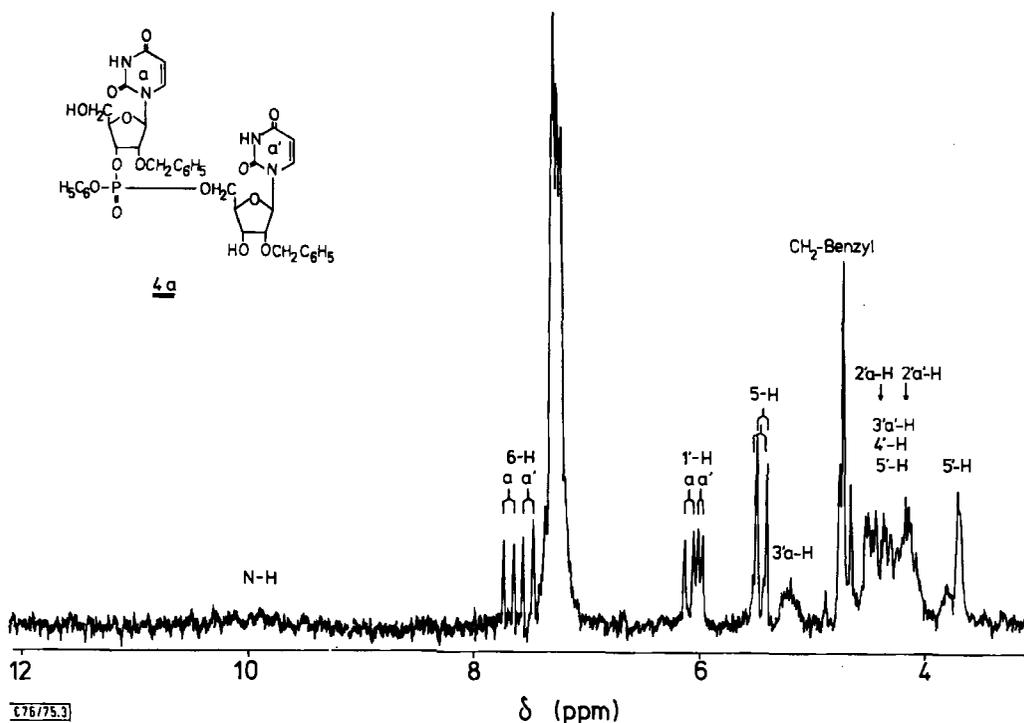


Abb. 3. 90-MHz-NMR-Spektrum des Diastereomeren **a** des 2'-*O*-Benzyluridylyl-(3' → 5')-2'-*O*-benzyluridin-phenylesters (**4**) in [D₆]Aceton

zweier Diastereomere sich in einer größeren Veränderung oder gar einer Umkehr der Vorzeichen der Cotton-Effekte⁷⁾ kundtut. Wie aus Abb. 5 und Tab. 2 hervorgeht, unterscheiden sich die Diastereomere **a** und **b** lediglich etwas in der Intensität der einzelnen Übergänge.

Die Charakteristik der CD-Spektren sämtlicher von uns untersuchter Uridin-, Uridylyluridin- und Uridylyluridin-phenylester-Derivate ist grundsätzlich schon im Uridin selbst vorgezeichnet, ohne daß die unterschiedliche Derivatisierung und Internucleotid-Verknüpfung eine grundlegende Änderung der Polarisierung der einzelnen Übergänge nach sich zieht. Der starke positive Cotton-Effekt des langwelligen Übergangs bei 265 bis 270 nm spricht nach der Regel von Ulbricht⁸⁾ für eine „anti“-Konformation von heterocyclischer Base zum Riboseteil des Moleküls.

Weitere Aussagen über die vorherrschenden Konformationen dieser komplexen Moleküle lassen sich anhand eines Vergleiches der CD-Spektren von 2'-*O*- und 3'-*O*-Benzyluridin machen (Abb. 6).

⁷⁾ P. Crabbe, *Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism in Organic Chemistry*, Holden Day, San Francisco 1965.

⁸⁾ G. T. Rogers und T. L. V. Ulbricht, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **27**, 372 (1967); T. L. V. Ulbricht in *Synth. Procedures in Nucleic and Chemistry*; W. W. Zorbach und R. S. Tipson, Vol. 2, S. 177, J. Wiley and Sons, New York 1973.

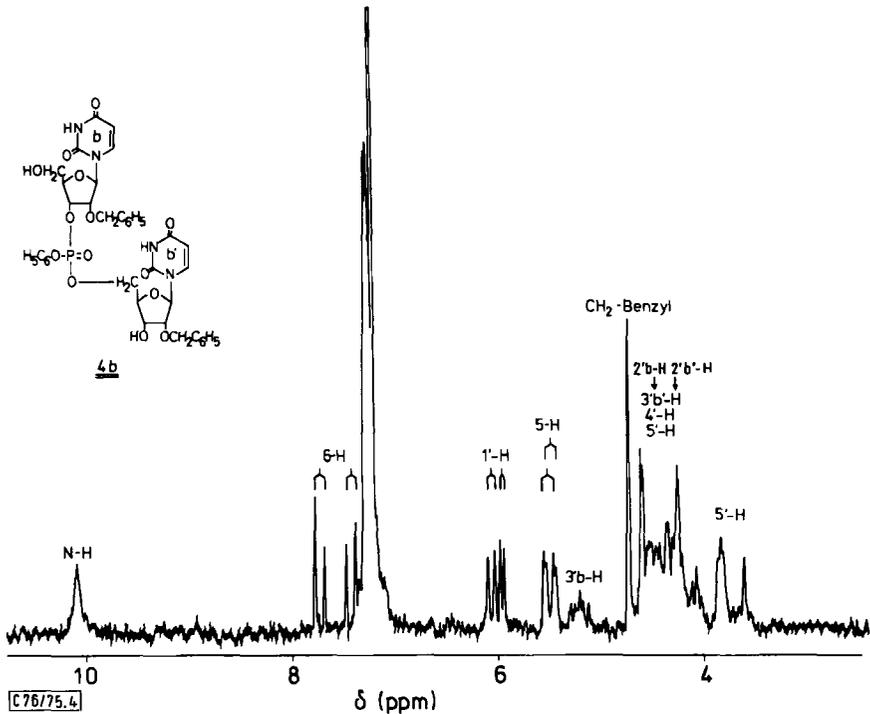
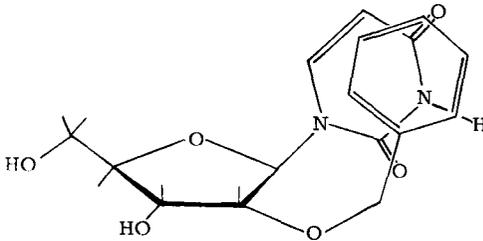


Abb. 4. 90-MHz-NMR-Spektrum des Diastereomeren **b** des 2'-*O*-Benzyluridylyl-(3' → 5')-2'-*O*-benzyluridin-phenylesters (**4**) in [D₆]Aceton

Erstere Verbindung zeigt im Bereich 200–210 nm einen ungewöhnlich stark negativen Cotton-Effekt, der unserer Ansicht nach in Analogie zur Erklärung der Hypochromizität der 2'-*O*-Benzyl- gegenüber den 3'-*O*-Benzylnucleosiden durch *Christensen* und *Broom*⁹⁾ auf eine Überlappung von Aglycon und Benzylgruppe zurückgeht, wie sie aus sterischen Gründen nur bei den 2'-*O*-Benzyl-Derivaten möglich ist.



⁹⁾ L. F. Christensen und A. D. Broom, *J. Org. Chem.* **37**, 3398 (1972); A. D. Broom und L. F. Christensen, *ebenda* **39**, 2660 (1974).

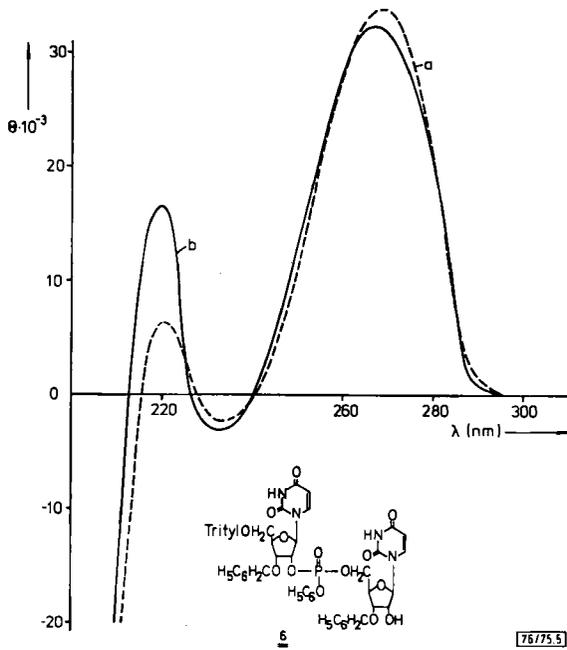
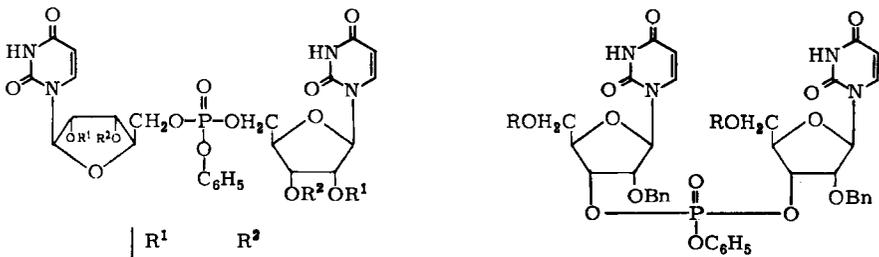
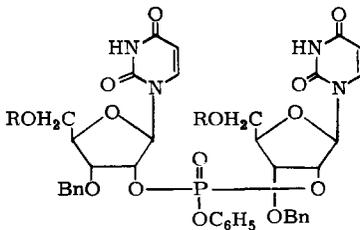


Abb. 5. CD-Spektren der Diastereomeren **6a** (---) und **6b** (—) in Methanol



	R ¹	R ²
9	Bn	CH ₃ CO
10	CH ₃ CO	Bn
11	Bn	H
12	H	Bn

	R
13	Trytyl
14	H



	R
15	Trytyl
16	H

Bn = CH₂C₆H₅

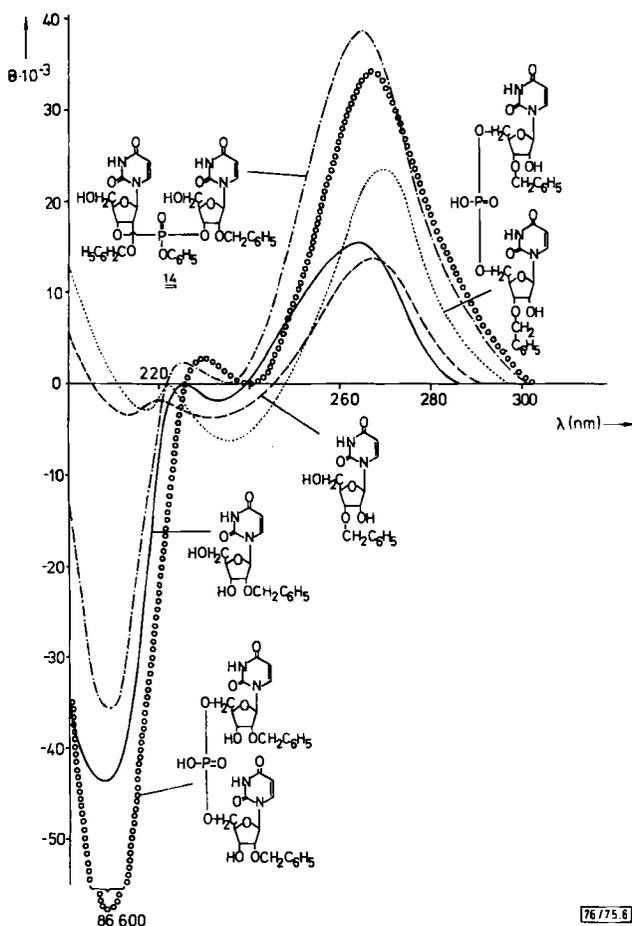


Abb. 6. CD-Spektren von 2'-O-Benzyl- (—), 3'-O-Benzyluridin (---), 3'-O-Benzyluridylyl-(5' → 5')-3'-O-Benzyluridin (·····) und 2'-O-Benzyluridylyl-(5' → 5')-2'-O-Benzyluridin (○○○○) in Wasser und 2'-O-Benzyluridylyl-(3' → 3')-2'-O-Benzyluridinphenylester (14) (— · — · —) in Methanol

Dieselbe Erscheinung wird auch bei 3, 4, 9, 11 und 14 beobachtet und stellt ferner ein vorherrschendes Merkmal der 2'-O-Benzyluridylyl-(3' → 3'), -(3' → 5')- und -(5' → 5')-uridine dar. Eine 5'-O-Tritylgruppe kann ebenfalls zu einem stark negativen Cotton-Effekt im Bereich um 200 nm Anlaß geben und verfälscht daher das Bild.

Mit Hilfe des Stereomodells läßt sich ebenfalls der Begriff der „Diastereotopie“ ableiten²⁾. Hier stellt dann allerdings das Phosphoratom kein Chiralitätszentrum mehr dar, was natürlich nicht bedeutet, daß die Verbindungen achiral sind. Zwei Gruppen oder Atome sind nämlich in einem Molekül dann zueinander diastereotop, wenn der wechselseitige Austausch je einer der beiden Gruppen durch einen neuen dritten Substituenten oder ein neues Atom zwei zueinander diastereomere Verbindungen entstehen läßt¹⁰⁾. Da die

¹⁰⁾ K. Mislow, Einführung in die Stereochemie, Verlag Chemie, Weinheim 1967.

diastereotopen Gruppen jeweils eine verschiedene Umgebung „sehen“, müssen ihre Wasserstoffkerne demnach auch unterschiedliche chemische Verschiebungen im NMR zeigen.

Dies kann man an den von uns synthetisierten Verbindungen 9–16 tatsächlich beobachten, denn hier sind jeweils die Uridylreste zueinander diastereotop.

Die Abb. 7 zeigt ein typisches NMR-Spektrum; die übrigen Daten sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Die Unterschiede in der chemischen Verschiebung sind nicht bei allen Protonen der jeweils zueinander diastereotopen Uridine gleich und auch verschieden nach den jeweiligen Verbindungstypen.

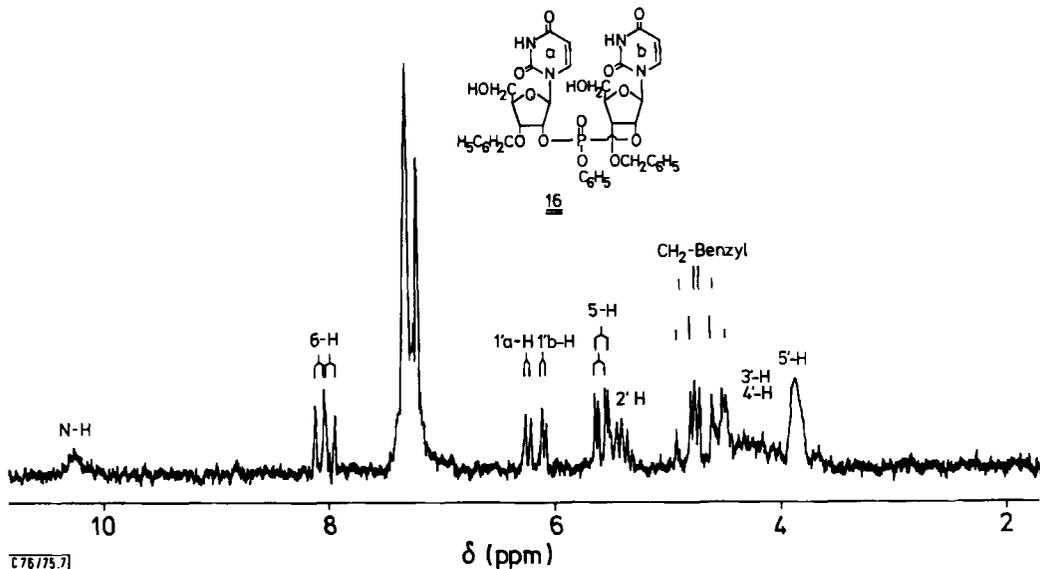


Abb. 7. 90-MHz-NMR-Spektrum des 3'-O-Benzyluridylyl-(2' → 2')-3'-O-Benzyluridinphenylesters (16) in $[D_6]$ Aceton

So zeigen sich bei den 2' → 2'-verknüpften Verbindungen 15 und 16, von denen, wie man am Kalottenmodell sieht, 15 besonders sterisch gehindert ist, große Differenzen beim 1'-H- und 2'-H-Signal. Man kann dies auf die räumliche Nähe zur Phosphorsäurephenylestergruppe zurückführen, die hier sicher einen größeren Einfluß ausübt als bei den sterisch relativ freien 5' → 5'-Isomeren. Bei letzteren sind z. B. die chemischen Verschiebungen der 5'-CH₂-Gruppen nicht deutlich verschieden.

Die zueinander diastereotopen 6-H-Protonen weisen bei fast allen Verbindungen größere Differenzen der δ -Werte auf. Eine Ausnahme bildet 10 nur insofern, als man die Unterschiede dort infolge der Überlagerung durch die Phenylprotonen nicht sehen kann. Diese Unterschiede sind möglicherweise Ausdruck einer Wechselwirkung zwischen dem Aglycon und der Phenylphosphatgruppe, wengleich die Tatsache, daß alle Spektren in organischen Lösungsmitteln aufgenommen wurden, gegen eine Art Phenyl-Uracil-„stacking“ spricht. Es sei schließlich am Rande vermerkt, daß nach Verseifung der Phenyltriesters zu Uridylyluridin-diestern bei den gleichartig verknüpften Vertretern keine

unterschiedlichen chemischen Verschiebungen der Protonen in den einzelnen Uridinen mehr nachgewiesen werden können, da jetzt die Uridyl-Substituenten nicht mehr diastereotop zueinander sind (Tab. 1).

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Herrn Dozent Dr. J. C. Jochims gilt unser Dank für wertvolle Hilfe bei Aufnahme und Diskussion von NMR-Spektren und Frau M. Bischler für die Bestimmung der übrigen physikalischen Daten.

Experimenteller Teil

Die NMR-Spektren wurden mit einem Bruker HFX-90-Spektrometer und die CD-Spektren mit einem Cary-Recording-Spektrometer, Modell 1115/60, der Firma Applied Physics Corp., aufgenommen.

Die Reinheit der untersuchten Verbindungen wurde durch Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel bzw. Cellulose sichergestellt.

[76/75]
