

# CHEMISCHE BERICHTE

In Fortsetzung der

BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

herausgegeben von der

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

110. Jahrg. Nr. 6

S. 2019–2406

Cyclophosphate, III<sup>1)</sup>

## Synthese und Eigenschaften von Uridin-3',5'-cyclophosphat-estern

Joachim Engels\* und Jeanne Hoftiezer\*)

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

Eingegangen am 1. September 1976

Die Uridin-3',5'-cyclophosphat-ester 4–11 wurden durch Reaktion der freien Säure des Uridin-3',5'-cyclophosphates (1–3) mit den entsprechenden Diazoalkanen erhalten. Die Zuordnung der stereoisomeren 1,3,2λ<sup>5</sup>-Dioxaphosphorinane läßt sich mit Hilfe der <sup>31</sup>P-NMR-Spektren aufgrund einer Röntgenstrukturanalyse zeigen. Eine stereoselektive Beeinflussung durch Variation der Reaktivität der Diazokomponente oder durch sterische Hinderung an der 2'-Position der Ribose, sowie in Abhängigkeit von der Temperatur, konnte partiell erzielt werden. Sämtliche synthetisierten Verbindungen wurden durch UV- und <sup>31</sup>P-NMR-Spektren charakterisiert.

Cyclophosphates, III<sup>1)</sup>

Synthesis and Properties of Uridine 3',5'-Cyclophosphate Esters

The uridine 3',5'-cyclophosphate esters 4–11 were synthesized by reaction of the free acid of uridine 3',5'-cyclophosphate (1–3) with the appropriate diazoalkane. The configuration of the isomeric 1,3,2λ<sup>5</sup>-dioxaphosphorinanes is assigned on the basis of an X-ray analysis with the aid of <sup>31</sup>P n. m. r. The stereoselectivity was influenced in part by the degree of reactivity of the diazo compound, by steric hindrance in the 2'-position of the ribose, and by variation in the reaction temperature. The newly synthesized compounds were characterized by u. v. and <sup>31</sup>P n. m. r. spectra.

Cyclophosphate der Ribonucleoside spielen eine wichtige Rolle als Informationsträger im Organismus. Wenngleich auch die Purinnucleoside die entscheidende Stellung einnehmen, so ist doch in letzter Zeit auch die Anwesenheit der Pyrimidinnucleoside im menschlichen Organismus wahrscheinlich gemacht<sup>2)</sup> worden. Diese Verbindungen liegen

\*) Carl-Duisberg-Stipendiat 1974–1976.

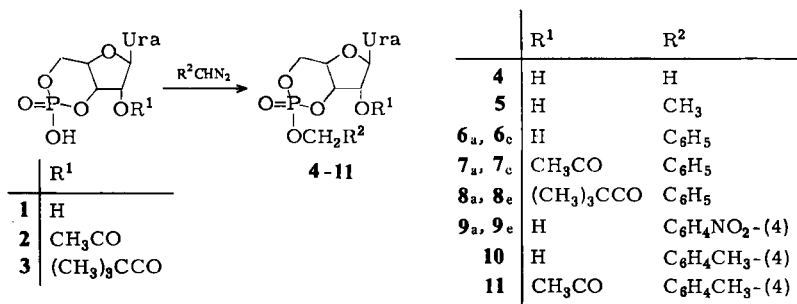
<sup>1)</sup> II. Mitteil.: J. Engels und W. Pfeleiderer, *Nucleic Acids Res., Spec. Publ. I*, 113 (1975).

<sup>2)</sup> A. Bloch, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **64**, 210 (1975).

im Körper als Salze vor, und ihre Synthese ist seit den Arbeiten von *Khorana*<sup>3)</sup> bekannt. Es schien uns von Interesse, solche Cyclophosphate mittels geeigneter Verfahren in die Ester zu überführen und die Reaktivität der Verbindungen zu testen. In einer Kurzzmitteilung<sup>4)</sup> haben wir bereits die allgemeine Synthese der Uridin-3',5'-cyclophosphat-ester skizziert. Aufgrund einer Röntgenstrukturanalyse<sup>5)</sup> ist es uns nunmehr möglich, die Stereochemie dieser Verbindungsklasse eindeutig zuzuordnen.

## Synthese

Ausgehend vom Uridin-3',5'-cyclophosphat (**1**) in Form der freien Säure läßt sich in Analogie zur Carbonsäurechemie<sup>6)</sup> eine Alkylierung mit aliphatischen Diazoverbindungen durchführen. Analog zu der Vorschrift von *Todd* und Mitarbb.<sup>7)</sup> wurde der Ansatz mit der Diazoverbindung bis zum pH 5–6 titriert. Als Nebenreaktion, speziell bei höherem pH, tritt eine Alkylierung des Uridins am N-3 ein. In unserem Fall bildet sich dieses Nebenprodukt, die bisalkylierte Spezies, hauptsächlich mit Diazoethan, weniger mit Diazomethan und fast nicht mit Phenyl diazomethan.



## Stereochemie

Die so synthetisierten Verbindungen **4–11** liegen jedoch infolge eines Asymmetrie-zentrums am Phosphor als Diastereomerenmisch vor, da die Reaktion nicht stereo-selektiv abläuft. Der sechsgliedrige Phosphatring, das 1,3,2λ<sup>5</sup>-Dioxaphosphorinan-2-on, ist die Bezugsgröße für die Einteilung. Da es sich um ein relativ starres bicyclisches System handelt, können die Liganden am Phosphor in axial und äquatorial eingeteilt werden. Die Auftrennung der beiden Komponenten gelang mit Hilfe der präparativen Schichtchromato-graphie auf Kieselgel. Die Zuordnung wurde in Anlehnung an die Literatur<sup>8–10)</sup> vorge-nommen. *Navech*<sup>8)</sup> hat als Regel für solche Triestersysteme gefunden, daß die axiale P=O-Funktion im IR bei niedrigerer Wellenzahl und im <sup>31</sup>P-NMR bei niedrigerem Feld

<sup>3)</sup> *H. G. Khorana*, Some Recent Developments in the Chemistry of Phosphate Esters of Biological Interest, J. Wiley & Sons, Inc., New York 1961.

<sup>4)</sup> *J. Engels* und *W. Pfeleiderer*, Tetrahedron Lett. **1975**, 1661, und dort zit. Lit.

<sup>5)</sup> *W. Depmeier*, *J. Engels* und *K. H. Klaska*, Acta Crystallogr., eingereicht.

<sup>6)</sup> *H. Henecka*, in Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl-Müller), 4. Aufl., Bd. VIII/3, S. 533, Thieme, Stuttgart 1952.

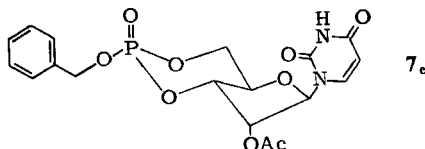
<sup>7)</sup> *D. M. Brown*, *D. J. Magrath* und *A. R. Todd*, J. Chem. Soc. **1955**, 4396.

<sup>8)</sup> *J. P. Majoral* und *J. Navech*, Bull. Soc. Chim. Fr. **1971**, 95.

<sup>9)</sup> *J. A. Mosbo* und *J. G. Verkade*, J. Am. Chem. Soc. **94**, 8224 (1972); **95**, 4659 (1973).

<sup>10)</sup> *D. B. Cooper*, *T. D. Inch* und *G. L. Lewis*, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1974**, 1043.

auftritt. Die gemessenen Differenzen der chemischen Verschiebungen bewegen sich zwischen 1.0 und 2.5 ppm. Bei unseren Untersuchungen ist uns eine Korrelation aufgefallen zwischen der P=O-Schwingungsfrequenz und der Frequenz einer Bande im Bereich von  $1000\text{ cm}^{-1}$ , die der P-O-C-Schwingung zugeordnet wird. Eine Verschiebung nach höherer Wellenzahl der P=O-Frequenz in einem Isomeren entspricht einer nach niedrigerer für die P-O-C-Bande. Da bei all den Synthesen ein Gemisch der beiden Isomeren entsteht, ist die relative Zuordnung so gut zu treffen, eine absolute Zuordnung ist auf dieser Basis natürlich nicht möglich. Die Röntgenstrukturanalyse des 2'-O-Acetyluridin-3',5'-cyclophosphat-benzylesters (7) hat dann die absolute Konfiguration bestätigt<sup>5)</sup>. Die Verbindung 7<sub>e</sub>, als äquatorial eingestuft, zeigt im Kristall die äquatoriale Geometrie der Benzylgruppe am Phosphor.



Nach Abklärung der Konfiguration der Produkte wurde versucht, die Selektivität der Synthese zu beeinflussen. Die bei den Synthesen auftretenden Isomerenverhältnisse, die aus der Integration der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren hervorgehen, belaufen sich zwischen 50:50 und 70:30 für a:e. Eine systematische Untersuchung zeigte, daß mit abnehmender Temperatur eine Bevorzugung des Produktes mit axialem Liganden eintritt (Tab. 1).

Tab. 1. 1 + PhCHN<sub>2</sub> in MeOH. CH<sub>2</sub>-Gruppen im <sup>1</sup>H-NMR integriert. % Isomere

°C	30	0	-30	-80
a	52	56	58	61
e	48	44	42	39

Fernerhin wurde versucht, durch sterischen Einfluß den Angriff des Alkylierungsmittels von der ungehinderten Seite zu bevorzugen. Eine Vergrößerung der 2'-OH-Gruppe durch Acetylierung oder Pivaloylierung zeigte eine Zunahme des Produktes mit axialem Liganden (Tab. 2).

Tab. 2. 1-3 + PhCHN<sub>2</sub> in MeOH. CH<sub>2</sub>-Gruppen im <sup>1</sup>H-NMR integriert. % Isomere

2'-OR <sup>1</sup>	OH	OAc	OPiv
a	56	67	65
e	44	33	35

Im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen ist es interessant, darauf hinzuweisen, daß bei der Reaktion der Verbindungen 2 und 3 eine Abspaltung der 2'-Estergruppe durch Diazoalkane auftritt, ein Phänomen, das schon *Bredereck*<sup>11)</sup> beobachtet hat. Der Verlust der Acetylgruppe liegt bei 5% und ist nur mit Phenyldiazomethan getestet. Zusätzlich wurde noch der Einfluß der Alkylierungskomponente untersucht. Wenn man als mechani-

<sup>11)</sup> H. Bredereck, R. Sieber und L. Kamphenkel, Chem. Ber. 89, 1169 (1956).

stische Hypothese<sup>12)</sup> einen Ionenpaarmechanismus zugrundelegt, dann sollte nach der Protonierung der Diazokomponente ein Carbokation gebildet werden, das dann in einem Rekombinationsschritt mit dem Phosphat-Ion reagiert. Verschiedene Substituenten am Benzylring sollten aufgrund ihres elektronischen Einflusses die Stabilität dieses Carbokations beeinflussen. Wenn man als Postulat formuliert, daß höhere Stabilität auch höhere Selektivität ergibt, so sollte ein Elektronendonorsubstituent das System selektiver, ein Elektronenakzeptorsubstituent weniger selektiv machen.

Tatsächlich findet sich die in Tab. 3 dargestellte Abhängigkeit. Leider war die Synthese des für diese Untersuchung sicher sehr interessanten 4-Methoxybenzylesters erfolglos, ebenso wie die des Benzhydrylestere<sup>13)</sup>. Da es sich um relativ kleine Differenzen in den Aktivierungsenergien handelt, ist eine eindeutig verlaufende Synthese auf diesem Wege nicht zu erwarten, das erreichte Optimum liegt bei **11** und  $-20^{\circ}\text{C}$  mit 84:16 für a:e.

Tab. 3.1 +  $p\text{-RC}_6\text{H}_4\text{CHN}_2$  in MeOH bei Raumtemperatur.  $\text{CH}_2$ -Gruppen im  $^1\text{H-NMR}$  integriert.  
% Isomere

R	$\text{CH}_3$	H	$\text{NO}_2$
a	75	55	55
e	25	45	45

## Hydrolyse

Als chemische Reaktion der Benzylester **6<sub>a</sub>** und **6<sub>e</sub>** wurde die anionische Debenzylierung<sup>14)</sup> in verschiedenen Lösungsmitteln wie Aceton, DMF und Acetonitril untersucht. Eine glatte Abspaltung erfolgte mit Natriumiodid in siedendem Acetonitril nach 20 h. Die Hydrolysen der Isomeren **6<sub>a</sub>** und **6<sub>e</sub>** in entgastem Wasser bei  $50^{\circ}\text{C}$  wurden mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie verfolgt. Mit internem Standard wurde das Entstehen von **1** gemessen. Die kinetische Betrachtung ergab eine pseudomonomolekulare Reaktion mit einer Standardabweichung von 0.99. Die daraus errechneten Halbwertszeiten belaufen sich für **6<sub>a</sub>** auf 113 min und für **6<sub>e</sub>** auf 37 min. Wenn man annimmt, daß der Übergangszustand bei der Hydrolyse für beide Formen gleich ist, so ergibt sich eine Grundzustandsdifferenz der beiden Isomeren mit ca. 0.7 kcal/mol.

Wir danken der *Universität Konstanz* für finanzielle Hilfe und der *Carl-Duisberg-Gesellschaft* für die Gewährung eines Stipendiums. Fernerhin gilt unser Dank Herrn Prof. *W. Pfeleiderer* für seine sachliche und fachliche Unterstützung.

## Experimenteller Teil

UV-Absorptionsspektren: Cary-Recording-Spectrometer, Modell 115/15 bzw. 1115/60 der Firma Applied Physics Corp. Für die chromatographischen Untersuchungen wurden Dünnschichtfolien F 1440 LS 254 von Schleicher & Schüll verwendet. Die präparative Schichtchromatographie erfolgte auf Merck Silicagel PF 254 in 1.5 mm Schichtdicke. Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie wurde mit dem Gerät HPLC 1010A der Firma Hewlett Packard, ausgerüstet mit UV-Detektor mit variabler Wellenlängeneinstellung von Schöffel, durchgeführt. Als Säulenmaterial

<sup>12)</sup> *W. Kirmse*, *Angew. Chem.* **88**, 273 (1976); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **15**, 251 (1976).

<sup>13)</sup> *F. Cramer* und *K. H. Scheit*, *Liebigs Ann. Chem.* **679**, 150 (1964).

<sup>14)</sup> *L. Zervas* und *J. Dilaris*, *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 5354 (1955).

Tab. 4. Physikalische Daten der Uridin-3',5'-cyclophosphat-ester

UV-Spektren (MeOH) $\lambda_{\max}$ (nm)	lg $\epsilon$	Dünnschichtchromatogramme <sup>a)</sup> auf Kieselgel (R <sub>F</sub> -Werte)		<sup>31</sup> P-NMR <sup>b)</sup> $\delta$ (ppm), rel. zu 85proz. H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	IR (Nujol) P=O (cm <sup>-1</sup> )	<sup>1</sup> H-NMR [D <sub>6</sub> ]DMSO/TMS $\delta$ (ppm) CH <sub>2</sub> Ph (d) <sup>d)</sup>
		CHCl <sub>3</sub> /MeOH (10:1)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH (9:1)			
1	260	4.02		3.50		
2	257	4.01		3.80		
3	256	4.06		4.16		
4	258	3.97	0.11	6.04/4.40 <sup>e)</sup>		
5	258	3.98	0.16	5.54/3.74		
6 <sub>a</sub>	257	3.99	0.29	7.14 <sup>e)</sup>		
6 <sub>c</sub>	257	4.05	0.25	5.22 <sup>e)</sup>	1280	5.20
7 <sub>a</sub>	254	4.00	0.49	7.42	1295	5.18
7 <sub>c</sub>	254	3.94	0.44	5.76	1265	5.25
8 <sub>a</sub>	254	3.95	0.61	7.60 <sup>e)</sup>	1270	5.20
8 <sub>c</sub>	254	4.06	0.50	5.51	1255	5.24
9 <sub>a</sub>	259	4.20	0.26	5.81	1015	5.20
9 <sub>c</sub>	259	4.19	0.22	4.30	1003	5.28
10	255	3.95	0.32/0.27	0.39/0.33	1260	5.26
11	254	3.94	0.51/0.46	5.63/4.07		5.08/5.04
				5.16/4.58		5.04/5.02

<sup>a)</sup> Fertigfolien der Fa. Schleicher & Schüll, F 1500 LS 254.

<sup>b)</sup> Positives Vorzeichen bezüglich 85proz. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> in [D<sub>6</sub>]DMSO.

<sup>c)</sup> In [D<sub>6</sub>]Aceton.

<sup>d)</sup> Die CH<sub>2</sub>-Gruppe erscheint infolge Kopplung mit <sup>31</sup>P als Dublett.

wurde Merckosorb SI 60 5  $\mu$  und Nucleosil 10 SB von Macherey-Nagel in 25-cm-Stahlsäulen mit 4 mm Durchmesser verwendet. Die  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren sind auf einem Bruker HX 90 in FT mit Breitbandenkopplung und ohne Suszeptibilitätskorrektur gemessen. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren wurden mit einem Jeol JNM-MH-100 Gerät aufgenommen. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

*Uridin-3',5'-cyclophosphat, Triethylammoniumsalz (1)*: Nach der Vorschrift von Khorana<sup>15</sup> wurden 3.682 g (10 mmol) 5'-Uridinmonophosphat, Dinatriumsalz (Waldhof), über Dowex 50 ( $\text{H}^{\oplus}$ ) in die freie Säure übergeführt. Die wäßrige Lösung wurde zur Trockne eingeeengt, in 75 ml Pyridin und 15 ml Wasser aufgenommen und mit 2.92 g (10 mmol) *N,N'*-Dicyclohexyl-1-morpholinoformamidin versetzt. Nach dem Einengen im Rotationsverdampfer wurde noch 3–4 mal mit je 50 ml absol. Pyridin koevaporiert. Die Glasapparatur, bestehend aus Dosiertrichter (250 ml), Liebigkühler und 1-Liter-Dreihalskolben wurde ausgeheizt und unter Stickstoff abgekühlt. In den Kolben gab man 8.24 g (40 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid, gelöst in 500 ml trockenem Pyridin. Im Dosiertrichter befand sich das 5'-UMP in 100 ml absol. Pyridin. Unter leichtem Stickstoffstrom wurde die Tropfgeschwindigkeit so reguliert, daß die 5'-UMP-Lösung während 10 h gleichmäßig in die siedende Pyridinlösung tropfte (Gelbfärbung). Nach beendeter Zugabe wurde mit 2 mal 50 ml Pyridin gespült und 1 h gekocht. Anschließend zog man das Pyridin i. Vak. ab, nahm in 100 ml Wasser auf, filtrierte durch Kieselgur und extrahierte das Filtrat mit 2 mal 100 ml Ether. Die wäßrige Phase wurde auf 30 ml eingeeengt, auf eine Dowex-Säule (2.5  $\times$  10 cm) ( $\text{H}^{\oplus}$ ) gegeben und mit 100 ml Wasser in eine Vorlage mit 5 ml Triethylamin eluiert. Das Eluat wurde zur Trockne eingeeengt, 2 mal mit 20 ml Methanol koevaporiert, das teilweise kristalline Produkt in heißem Methanol gelöst und auskristallisiert. Ausb. 2.395 g (59%) farblose Kristalle vom Schmp. 220–223°C (Zers.).

$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}$  (407.4) Ber. C 44.22 H 6.43 N 10.32 P 7.61  
Gef. C 44.05 H 6.68 N 10.31 P 7.51

*2'-O-Acetyluridin-3',5'-cyclophosphat, Triethylammoniumsalz (2)*: 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden in 10 ml absol. Pyridin mit 4 Äquiv. Acetanhydrid versetzt. Nach 50 h Rühren bei Raumtemp. war chromatographisch kein Ausgangsprodukt mehr feststellbar. Nach Einengen zur Trockne und Koevaporieren mit Wasser und Ethanol erhielt man 402.6 mg (90%) farblose Kristalle aus Ethanol vom Schmp. 245°C (Zers.).

$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$  (449.4) Ber. C 45.43 H 6.28 N 9.35 P 6.90  
Gef. C 45.44 H 6.32 N 9.17 P 6.86

*2'-O-Pivaloyluridin-3',5'-cyclophosphat, Triethylammoniumsalz (3)*: 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden mit 489 mg (4 mmol) 4-(Dimethylamino)pyridin<sup>16</sup> und 4 ml wasserfreiem Pyridin versetzt, koevaporiert und dieser Vorgang noch einmal wiederholt. Anschließend wurde der Ansatz in 5 ml Pyridin mit 1 ml (5 mmol) Pivaloylanhydrid bei 60°C für 90 h gerührt. Nach Eindampfen im Rotationsverdampfer wurde der Rückstand in wenig Wasser gelöst, auf eine DEAE-Cellulose-Säule (38  $\times$  2.5 cm) aufgetragen und mit einem 45°-Gradienten von 0.002 nach 0.1 mol Triethylammoniumhydrogencarbonatlösung eluiert, Tropfgeschwindigkeit 30 Tropfen pro min. Nach 480 ml Vorlauf und 320 ml Zwischenfraktion wurden 350 ml Produktfraktion erhalten. Diese wurde zur Trockne eingeeengt und mehrmals bis zur Gewichtskonstanz mit Wasser koevaporiert. Der verbliebene Feststoff ergab aus Aceton/Acetonitril (7:2) 296.1 mg (60%) farblose Kristalle vom Schmp. 255°C.

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$  (491.5) Ber. C 48.87 H 6.97 N 8.55 P 6.31  
Gef. C 49.06 H 7.05 N 8.78 P 6.54

<sup>15</sup> M. Smith, G. J. Drummond und H. G. Khorana, J. Am. Chem. Soc. **83**, 698 (1961).

<sup>16</sup> W. Steglich und G. Höfle, Angew. Chem. **81**, 1001 (1969); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **8**, 981 (1969).

*Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Cyclophosphat-ester*

1 mmol **1** (bzw. **2** bzw. **3**) wurde in 15 ml wasserfreiem Methanol suspendiert, mit 1.5 g Amberlyst ( $H^+$ ) (Serva) versetzt und bei Raumtemp. unter gelegentlichem Schütteln 1 h stehengelassen. Während dieser Zeit wurde im Falle des Diazomethans, -ethans, Phenyl Diazomethans und *p*-Tolyldiazomethans deren ether. Lösung frisch hergestellt; 4-Nitrophenyldiazomethan ist haltbar. Die methanol. Lösung von **1** (bzw. **2** bzw. **3**) wurde abfiltriert und das Amberlyst 6 mal mit je 2–3 ml Methanol gewaschen. Die saure methanol. Lösung wurde pipettenweise mit der ether. Diazomethanolösung versetzt bis pH 5–6 erreicht war. Das Reaktionsgemisch wurde dann eingengt, mit 30–50 ml Ether gefällt und abzentrifugiert. Das Zentrifugat wurde in wenig Chloroform/Methanol gelöst und über eine 6-g-Kieselgelkurzsäule mit etwa 50 ml Chloroform/Methanol (5:1) chromatographiert. Das auf 2–3 ml eingeeengte Eluat wurde dann auf präparative Kieselgelplatten ( $40 \times 20 \times 0.15$  cm) aufgetragen und mit der angegebenen Mischung entwickelt. Eine Trennung des Isomerengemisches in die axialen und äquatorialen Verbindungen erfolgte auf Kieselgelschichtplatten ( $20 \times 20 \times 0.1$  cm).

*Uridin-3',5'-cyclophosphat-methylester (4):* 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden wie oben beschrieben mit einer ether. Diazomethanolösung, hergestellt aus 5.0 g (48 mmol) *N*-Methyl-*N*-nitrosoharnstoff, behandelt. Das Rohprodukt wurde auf 2 Platten ( $40 \times 20 \times 0.15$  cm) mit Chloroform/Methanol (5:1) chromatographiert. Das mit Aceton eluierte, chromatographisch noch nicht reine Produkt wurde nochmals wie beschrieben chromatographiert. Aus Dioxan gefriergetrocknet verblieben 220.0 mg (69%) eines farblosen Pulvers. Eine Auftrennung in die beiden Stereoisomeren war dünnenschichtchromatographisch nicht erfolgreich.

$C_{10}H_{13}N_2O_8P$  (320.2) Ber. C 37.50 H 4.09 N 8.75 P 9.69

Gef. C 37.23 H 4.39 N 8.57 P 9.72

*Uridin-3',5'-cyclophosphat-ethylester (5):* 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden wie oben beschrieben mit einer ether. Diazoethanolösung, hergestellt aus 5.8 g (50 mmol) *N*-Ethyl-*N*-nitrosoharnstoff, bis pH 5 titriert. Das Rohprodukt wurde auf 2 Platten ( $40 \times 20 \times 0.15$  cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (8:1) entwickelt. Die Produktzonen, mit Aceton eluiert und aus Dioxan gefriergetrocknet, ergaben 157.3 mg (47%) farbloses Pulver und eine Substanz (73.1 mg; 22%) mit höherem  $R_F$  (auch Isomerengemisch): am *N*-3 ethylierten Triester. Eine präparative Trennung der beiden Isomeren war in diesem Falle nicht erfolgreich.

$C_{11}H_{15}N_2O_8P$  (334.2) Ber. C 39.53 H 4.52 N 8.38 P 9.27

Gef. C 39.70 H 4.80 N 8.47 P 9.50

*Uridin-3',5'-cyclophosphat-benzylester (6):* 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden wie oben beschrieben mit einer aus 2.5 g (11 mmol) *N*-Benzyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidin<sup>17)</sup> hergestellten ether. Phenyl Diazomethanolösung bis pH 6 versetzt. Das Rohprodukt wurde auf 2 Platten ( $40 \times 20 \times 0.15$  cm) mit Chloroform/Methanol (9:1) entwickelt und mit Aceton eluiert. Der Vorgang wurde mit Chloroform/Methanol (10:1) wiederholt. Aus Dioxan gefriergetrocknet verblieben 199.2 mg (50%) farbloses Pulver. Die Auftrennung in die beiden Isomeren erfolgte auf 2 Schichtplatten ( $20 \times 20 \times 0.1$  cm), die 4 mal mit Chloroform/Methanol (10:1) entwickelt wurden. Elution der beiden Hauptzonen mit Aceton ergab nach Gefrier Trocknung aus Dioxan 106.0 mg **6<sub>a</sub>** und 40.4 mg **6<sub>b</sub>** (zusammen 37%), farbloses Pulver.

$C_{16}H_{17}N_2O_8P$  (396.3) Ber. C 48.49 H 4.32 N 7.07 P 7.83

Gef. C 48.78 H 4.28 N 7.19 P 7.85

*2'-O-Acetyluridin-3',5'-cyclophosphat-benzylester (7):* 449.4 mg (1.0 mmol) **2** wurden wie oben beschrieben mit einer aus 6.0 g (27 mmol) *N*-Benzyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidin<sup>17)</sup> frisch herge-

<sup>17)</sup> B. Eistert, M. Regitz, G. Heck und H. Schwall, in Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl-Müller), 4. Aufl., Bd. X/4, S. 543, Thieme, Stuttgart 1968.

stellten Phenyl Diazomethanlösung bis pH 5 titriert. Zur Chromatographie wurde das Rohprodukt auf 2 Platten (40 × 20 × 0.15 cm) aufgetragen, mit Chloroform/Methanol (10:1) entwickelt und mit Aceton eluiert. Aus Dioxan gefriergetrocknet verblieben 245.6 mg (56%). Zum Auftrennen in die beiden Isomeren wurde das Gemisch auf 2 Platten (40 × 20 × 0.1 cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (10:1) 3 mal entwickelt. Von den beiden Hauptzonen enthielt die obere, eluiert mit Aceton und gefriergetrocknet aus Dioxan, 155.9 mg **7<sub>a</sub>** und die untere 41.2 mg **7<sub>c</sub>** (zusammen 48%). Die untere Zone kristallisierte aus Methanol in farblosen Prismen vom Schmp. 178°C (Zers.). Ein geeigneter Kristall für die Röntgenstrukturanalyse wurde aus wäßrigem Methanol erhalten.

MS (70 eV):  $m/e = 438$  (36%, **7<sub>a</sub>**, 6% **7<sub>c</sub>**,  $M^+$ ).

$C_{18}H_{19}N_2O_9P$  (438.3) Ber. C 49.32 H 4.37 N 6.39 P 7.07

Gef. C 49.27 H 4.36 N 6.57 P 7.15

*2'-O-Pivaloyluridin-3',5'-cyclophosphat-benzylester* (**8**): 245.8 mg (0.5 mmol) **3** wurden wie oben beschrieben mit einer aus 3.5 g (15.7 mmol) *N*-Benzyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidin<sup>17)</sup> frisch hergestellten ether. Phenyl Diazomethanlösung bis pH 5 versetzt. Das Rohprodukt wurde auf 2 Platten (40 × 20 × 0.1 cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (10:1) entwickelt. Die beiden Isomeren waren getrennt. Eluiert und gefriergetrocknet aus Dioxan verblieben 110.2 mg **8<sub>c</sub>** und 33.1 mg **8<sub>e</sub>** (zusammen 60%) als farbloses Pulver. **8<sub>c</sub>** kristallisierte aus Methanol zu farblosen Prismen vom Schmp. 190°C (Zers.).

MS (70 eV):  $m/e = 480$  (8% **8<sub>a</sub>**, 18% **8<sub>e</sub>**,  $M^+$ ).

$C_{21}H_{25}N_2O_9P$  (480.4) Ber. C 52.50 H 5.24 N 5.83 P 6.45

Gef. C 52.26 H 5.27 N 5.63 P 6.40

*Uridin-3',5'-cyclophosphat-4-nitrobenzylester* (**9**): 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden wie oben beschrieben mit einer Lösung von 1.0 g (6 mmol) 4-Nitrophenyl Diazomethan<sup>18)</sup> in Chloroform bis pH 5 titriert. Das Rohprodukt wurde auf 2 Platten (40 × 20 × 0.15 cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (8:1) 2 mal entwickelt. Das Isomerengemisch wurde gemeinsam mit Aceton eluiert und aus Dioxan/Wasser gefriergetrocknet zu 287.2 mg (65%) eines schwach gelben Pulvers.

Die Auftrennung in die Isomeren erfolgte nur in einem kleinen Ansatz, da die Trennung sehr diffizil ist. 10.0 mg wurden auf eine Platte (20 × 20 × 0.1 cm) aufgetragen und mit 1,2-Dichlor-ethan/Ethanol (10:1) in die Isomeren **9<sub>a</sub>** und **9<sub>c</sub>** aufgetrennt.

$C_{16}H_{16}N_3O_{10}P$  (441.3) Ber. C 43.55 H 3.65 N 9.52 P 7.03

Gef. C 43.83 H 3.83 N 9.56 P 7.24

*Uridin-3',5'-cyclophosphat-4-methylbenzylester* (**10**): 407.4 mg (1.0 mmol) **1** wurden wie oben beschrieben mit einer Pentanlösung von *p*-Tolyldiazomethan<sup>19)</sup>, frisch hergestellt aus 2.88 g (10 mmol) *p*-Tolualdehyd-tosylhydrazon, bis pH 6 versetzt. Das Rohprodukt wurde auf 3 Platten (40 × 20 × 0.15 cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (9:1) entwickelt. Das Isomerengemisch, mit Aceton eluiert und aus Dioxan gefriergetrocknet, ergab 262.2 mg (64%) farbloses Pulver. Eine Auftrennung in die Isomeren **10<sub>a</sub>** und **10<sub>c</sub>** ist prinzipiell möglich, jedoch zersetzt sich **10<sub>c</sub>** unter den chromatographischen Bedingungen.

$C_{17}H_{19}N_2O_8P$  (410.3) Ber. C 49.76 H 4.67 N 6.83 P 7.55

Gef. C 49.76 H 4.98 N 6.41 P 7.15

*2'-O-Acetyluridin-3',5'-cyclophosphat-4-methylbenzylester* (**11**): 224.7 mg (0.5 mmol) **2** wurden wie oben beschrieben bei -20°C mit einer Pentanlösung von *p*-Tolyldiazomethan<sup>19)</sup>, die aus

<sup>18)</sup> Siehe Lit.<sup>17)</sup>, S. 558.

<sup>19)</sup> G. L. Closs und R. A. Moss, J. Am. Chem. Soc. **86**, 4050 (1964).



1.73 g (6 mmol) *p*-Tolualdehyd-tosylhydrazon frisch hergestellt wurde, bis pH 5 titriert. Das Rohprodukt wurde auf 3 Platten (40 × 20 × 0.1 cm) aufgetragen und mit Chloroform/Methanol (7:1) entwickelt. Eluiert mit Aceton und gefriergetrocknet aus Dioxan verblieben 59.1 mg (26%) farbloses Pulver. Die chromatographische Trennung in die Isomeren ist prinzipiell möglich, jedoch zersetzen sich die Komponenten zusehends beim Mehrfachentwickeln.

$C_{19}H_{21}N_2O_9P$  (452.2) Ber. P 6.85 Gef. P 6.70

[392/76]