

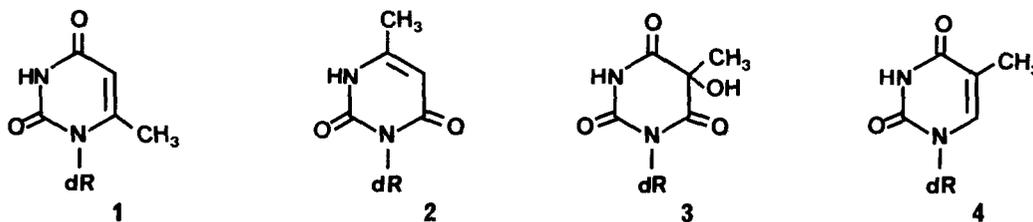
ANALYSE DE RMN A 250 MHz DE LA METHYL-6-DESOXY-2'-
URIDINE- CONFORMATION *SYN* PREFERENTIELLE EN SOLUTION AQUEUSE

J. CADET^{**}, R. DUCOLOMB^{**}, et C. TAIEB^{***}

Département de Recherche Fondamentale,
^{**} Laboratoire de Radiobiologie - ^{***} Laboratoire de Chimie Organique Physique
Centre d'Etudes Nucléaires, BP 85, Centre de tri, 38041 GRENOBLE (FRANCE)

(Received in France 26 May 1975; received in UK for publication 26 August 1975)

La substitution de la position 6 d'un ribonucléoside pyrimidique par un groupement volumineux entraîne d'importantes modifications conformationnelles de la molécule. Il a été établi par des études de dichroïsme circulaire [1] et de r.m.n (¹H et ¹³C) [2,3] que l'aglycone de la méthyl-6-uridine adopte en solution une orientation *syn* autour de la liaison N-glycosidique. L'effet Cotton positif observé à 260 nm dans le spectre de dichroïsme circulaire de la méthyl-6-désoxy-2'-uridine 1 [4,5] est généralement caractéristique des β nucléosides pyrimidiques en conformation *anti*. Toutefois ces seules données spectroscopiques ne permettent pas de définir sans ambiguïté la conformation rotationnelle de 1 autour de la liaison C-N [4]. L'analyse détaillée par r.m.n protonique à 250 MHz de 1, de la (désoxy-2-β-D-ribofurannosyl)-3-méthyl-6-uracile 2 [5] et des diastéréoisomères 5 R^{**} et 5 S^{**}, de l'acide (désoxy-2-β-D-ribofurannosyl)-1-hydroxy-5-méthyl-5-barbiturique 3a et 3b [6] est présentée dans cette note. Les substances 2 et 3 dont l'une des deux fonctions carbonyles en ortho de la liaison C-N est située à proximité des



dR = désoxy-2-β-D ribofurannosyl

substituants *endo* du cycle furannique simulent le comportement de nucléosides en conformation *syn* [7]. Le modèle conformationnel voisin qui est proposé pour 1, 2 et 3 est sensiblement différent de celui de la thymidine 4 [8,9].

Attributions spectroscopiques.

Les spectres de r.m.n des nucléosides 0,1 M dans l'oxyde de deutérium ont été enregistrés sur un appareil CAMECA TSN 250 MHz à 20°C avec le tétradeutério-2,2,3,3-(triméthylsilyl)-3-propionate de sodium (TSP) placé comme référence interne. Les analyses spectrales ont été effectuées à l'aide du programme LAOCOON III. Les valeurs de déplacement chimique (δ) et les constantes de couplages qui sont présentées dans les tableaux 1 et 2 sont celles qui donnent la meilleure correspondance entre les spectres expérimental et simulé à l'ordinateur (fig. 1).

Tableau 1 : Déplacements chimiques (δ , ppm) des protons de nucléosides dans D₂O (TSP).

| Nucléosides | H-6 (ou CH ₃) | H-5 (ou CH ₃) | H-1' | H-2' | H-2'' | H-3' | H-4' | H-5' _B | H-5' _C |
|--|------------------------------|------------------------------|--------------|--------------|-------|------|------|-------------------|-------------------|
| méthyl-6-désoxy-2'- uridine <u>1</u> | 2.39 | 5.74 | 6.20 | 2.96 | 2.27 | 4.55 | 3.94 | 3.86 | 3.77 |
| (désoxy-2- β -D-ribofuranosyl)-3-méthyl-6- uracile <u>2</u> | 2.16 | 5.63 | 6.68 | 2.87 | 2.22 | 4.56 | 3.95 | 3.85 | 3.76 |
| acide (désoxy-2- β -D-ribofuranosyl)-1-hydroxy-5-méthyl-5-barbirurique ^a <u>3</u> | - | 1.72 | 6.47 6.49 | 2.70 2.87 | 2.28 | 4.56 | 3.94 | b | b |
| thymidine <u>4</u> | 7.66 | 1.91 | 6.28 | 2.39 | | 4.48 | 4.03 | 3.86 | 3.79 |

a = Le mélange des nucléosides 3a et 3b est analysé globalement ; les seules différences de δ concernent H-1' et H-2'.

b = Ces valeurs n'ont pu être déterminées.

Tableau 2 : Constantes de couplage en Hz des protons osidiques.

| Nucléosides | J _{1',2'} | J _{1',2''} | J _{2',2''} | J _{2',3'} | J _{2'',3'} | J _{3',4'} | J _{4',5'_B} | J _{4',5'_C} | J _{5'_B,5'_C} | J _{4',5'_B} + J _{4',5'_C} (Σ) |
|-------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|---|
| <u>1</u> | 5.2 | 8.6 | - 13.9 | 8.2 | 5.7 | 5.8 | 3.4 | 6.7 | - 12.0 | 10.1 |
| <u>2</u> | 5.9 | 8.8 | - 13.7 | 7.9 | 5.4 | 5.2 | 3.6 | 6.4 | - 12.0 | 10.0 |
| <u>3</u> | 5.8 | 8.7 | - 13.9 | 8.0 | 5.3 | 5.2 | a | a | a | a |
| <u>4b</u> | 7.0 | 7.0 | - | 5.6 | 5.6 | 3.7 | 3.6 | 5.0 | - 12.1 | 8.6 |

a = Non déterminées

b = Une analyse de r.m.n de la thymidine a été effectuée récemment par Hruska et coll. [9].

Les spectres de 1, 2, 3a et 3b qui présentent de nombreuses analogies sont étudiés globalement. L'attribution de H-1', H-3' et H-4' repose sur des expériences de double irradiation. Le mode d'attribution de H-2' et de H-2'' fait intervenir le concept pseudorotationnel récemment introduit en analyse conformationnelle des nucléosides et des nucléotides [10-12]. L'existence d'un équilibre dynamique entre les conformères C_{3',endo}(N) \rightleftharpoons C_{2',endo}(S) ne conduit qu'à l'observation de valeurs moyennes de constante de couplage des protons du cycle osidique. Dans le modèle désoxyribofuranosique les angles dièdres définis respectivement par H-2'', H-3' et H-3', H-4' sont sensiblement égaux, quelque soit l'équilibre conformationnel ; il en résulte en raison de la similitude de l'environnement électronique de ces deux paires de protons une quasi-identité de J_{2'',3'} et J_{3',4'}. Dans ces conditions J_{2',3'} est supérieur à J_{2'',3'} (tableau 2) et H-2' résonne à des champs plus faibles que H-2''. Une conformation pseudo-axiale des protons H-3', H-4' ou H-2'', H-3' est associée avec une conformation pseudo-équatoriale des protons H-1', H-2' et inversement. La comparaison des valeurs de J_{3',4'} et J_{1',2'} (tableau 2)

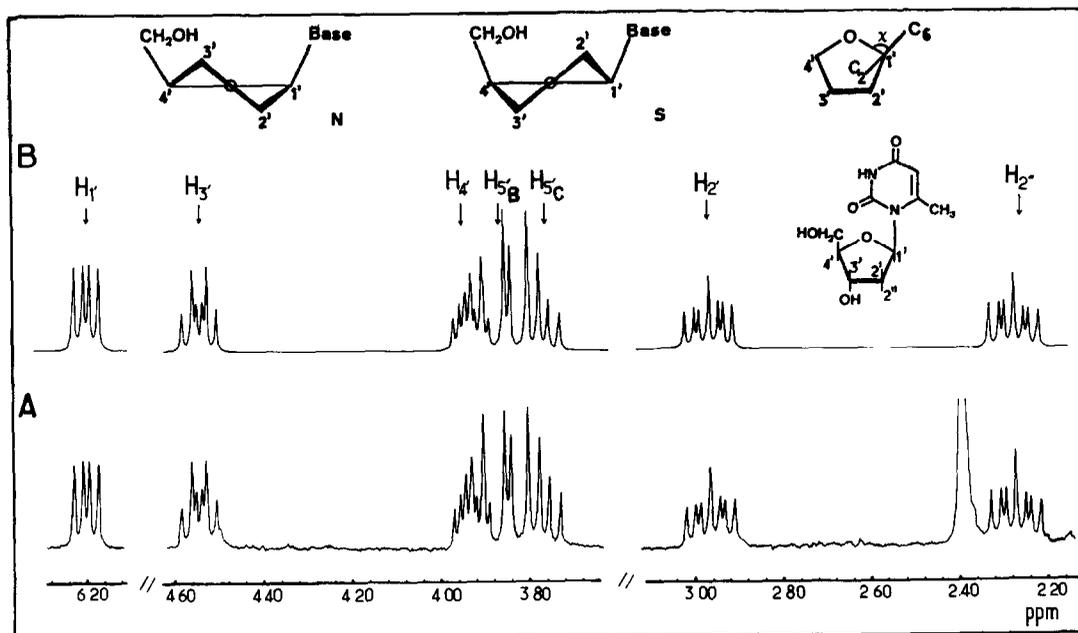


Fig 1: Représentation schématique des conformères N et S et de l'angle χ . Spectres expérimental (A) et simulé (B) de la méthyl-6-désoxy-2'-uridine.

avec celles de la désoxy-2'-uridine [13] ($J_{1',2'} = 6,5$; $J_{3',4'} = 4,0$) montre que l'augmentation de $J_{3',4'}$ ($> 5,2$) de 1, 2 et 3 se traduit effectivement par une diminution relative de $J_{1',2'}$ ($< 5,9$).

Conformation du cycle osidique.

De fortes valeurs de $J_{1',2'}$ et $J_{2',3'}$, comparativement à celles calculées pour chacun des conformères purs N et S [14] sont notées pour 1, 2 et 3.

Dans ces conditions la relation $P_N = J_{3',4'} \times 10$ qui permet de calculer la population conformationnelle de type N n'est que semi-quantitative. On note un déplacement important de l'équilibre $N \rightleftharpoons S$ vers le conformère N ($\approx 60\%$ pour 1 contre 40% pour la thymidine 4).

Conformation du groupement hydroxyméthyl exocyclique.

La conformation autour de la liaison exocyclique C(4')-C(5') est discutée en termes d'interconversion rapide entre les trois rotamères décalés gauche-gauche (gg), trans-gauche (tg) et gauche-trans (gt) qui présentent le niveau d'énergie le plus bas. La difficulté d'attribution de H-5'_B et H-5'_C ne permet qu'une détermination de l'importance relative de la population conformationnelle gg (P_{gg}) et de la somme ($P_{tg} + P_{gt}$). Une expression simplifiée qui relie P_{gg} à la somme $J_{4',5'_B} + J_{4',5'_C}$ (ou Σ) a été proposée par Hruska et coll. [15] : $P_{gg} = (13 - \Sigma)/10$. L'augmentation de Σ pour 1 et 2 par rapport à la thymidine 4 ($\Sigma = 8,6$) traduit une déstabilisation du rotamère gg ($P_{gg} = 29\%$ pour 1 et 30% pour 2) par répulsion entre la fonction carbonyle et le groupement OH(5'). Les nucléosides 1, 2 n'obéissent pas à l'instar du (β -D-ribofurannosyl)-1-méthyl-6-uracile ou de l'acide (β -D-ribofurannosyl)cyanurique [9] à la relation linéaire entre P_{gg} et $J_{3',4'}$, qui a été établie pour la plupart des nucléosides [15].

Angle de torsion sucre-base.

Les valeurs de déplacement chimique des protons osidiques dépendent étroitement de l'orientation de la base pyrimidique autour de la liaison C-N [16,17] qui peut être définie par l'angle χ [18]. L'anisotropie diamagnétique de la fonction carbonyle en *ortho* de la liaison N-glycosydique se manifeste chez la méthyl-6-uridine ou la méthyl-6-cytidine qui sont des conformères *syn* ($\chi \approx 105^\circ$) par un glissement de $\delta H-2'$ et à un degré moindre de $\delta H-3'$ vers les hautes fréquences [3]. Les nucléosides 1, 2 et 3 donnent lieu à des observations similaires (tableau 1). Les protons *endo* sont déplacés vers les champs faibles ($H-2' > H-3' > H-5'_B, H-5'_C$) alors que l'on note un léger effet de blindage de $H-4'$ et $H-1'$. Les valeurs différentes de $\delta H-2'$ pour chacun des nucléosides 1, 2, 3a et 3b sont vraisemblablement le reflet d'une variation de l'angle χ qui se traduit également par de légères modifications conformationnelles du cycle furannique (*vide supra*)

En conclusion la similitude des caractéristiques conformationnelles de 1, 2 et 3 implique que l'aglycone de la méthyl-6-désoxy-2'-uridine adopte une conformation rotationnelle *syn* autour de la liaison C-N.

Remerciements.

Nous remercions M. Reutenauer du Laboratoire de Résonance Magnétique du Département de Recherche Fondamentale du C.E.N. Grenoble pour l'enregistrement des spectres de r.m.n à 250 MHz.

Références.

- (1) MILES D.V., ROBINS M.J., ROBINS R.K., WINKLEY N.W. et EYRING M.- J. Am. Chem. Soc. 91, 824 (1969)
- (2) SCHWEIZER M.P., WITKOWSKI J.T. et ROBINS R.K.- J. Am. Chem. Soc. 93, 237 (1971)
- (3) SCHWEIZER M.P., BANTA E.B., WITKOWSKI J.T. et ROBINS R.K.- J. Am. Chem. Soc. 95, 3770 (1973)
- (4) HOLY A., Coll. Czech. Chem. Comm. 38, 3912 (1973)
- (5) CADET J.- à paraître
- (6) CADET J. et TEOULE R.-Bull. Soc. Chim. Fr. p. 1565 (1974)
- (7) HRUSKA F.E., WOOD D.J., Mc CAIG T.N., SMITH A.A et HCLY A.- Can. J. Chem. 52, 497 (1973)
- (8) LEMIEUX R.V.- Can. J. Chem. 39, 116 (1961)
- (9) WOOD D.J., HRUSKA F.E. et OLGIVIE K.K.- Can. J. Chem. 52, 3353 (1974)
- (10) ALTONA C. et SUNDARALINGAM M., J. Am. Chem. Soc. 94, 8205 (1972)
- (11) SARMA R.H. et MYNOTT R.T.- J. Am. Chem. Soc. 95, 1041 (1973)
- (12) HRUSKA F.E. dans "Conformation of Biological Molecules and Polymers" (Bergman, E.D et Pullman B. Eds) vol. V, p. 345 (1973) The Israël Academy of Sciences and Humanities, Jérusalem.
- (13) SCHLEICH T., BLACKBURN B.J., LAPPER R.D. et SMITH I.C.P.- Biochem. 11, 137 (1972)
- (14) ALTONA C. et SUNDARALINGAM M.- J. Am. Chem. Soc. 95, 2333 (1973)
- (15) HRUSKA F.E., WOOD D.J., MYNOTT R.J. et SARMA R.H.- FEBS Letters 31, 153 (1973)
- (16) PRESTEGARD J.H. et CHAN S.P.- J. Am. Chem. Soc. 91, 2843 (1962)
- (17) HRUSKA F.E.- J. Am. Chem. Soc. 93, 1795 (1973)
- (18) SUNDARALINGAM M.- Biopolymers 7, 821 (1969).