

KONFIGURATIONS- UND KONFORMATIONS- UNTERSUCHUNGEN VON ADENOSINANALOGEN MIT ¹³C-RESONANZ

E. BREITMAIER und W. VOELTER

Chemisches Institut der Universität, 74 Tübingen, Wilhelmstr. 33

(Received in Germany 7 August 1972; Received in the UK for publication 24 August 1972)

Abstract—The ¹³C NMR spectra of different analogs of the nucleoside adenosine are discussed. In replacing the ribofuranosyl residue by furanose and pyranose moieties of xylose and arabinose the influence of configuration of the OH groups and conformation of the pyranose ring on the ¹³C chemical shifts of the different sugar signals can be studied. The assignments of the signals are achieved by comparison of the nucleoside spectra with those of the corresponding sugars and methyl glycosides. The chemical shifts of the pyranose C atoms in anomers are significantly influenced by the change of configuration at C atom 1.

Die ¹³C-NMR Spektren von Zuckeranomeren wurden in früheren Arbeiten beschrieben.¹⁻² Die Signalzuordnung erfolgte im wesentlichen auf Grund der folgenden Beziehungen:

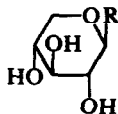
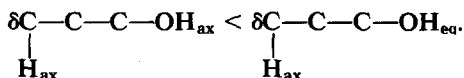
(1) Ein axiales Sauerstoffatom (OH, OR) an einem Pyranosekohlenstoff verschiebt das entsprechende ¹³C-Signal nach höherem Feld:



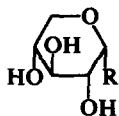
(2) Ein axiales Sauerstoffatom an C-1 verschiebt das ¹³C-2-Signal nach höherem Feld:



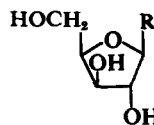
(3) Ein axiales O-Atom in 3-Stellung zu axialen H-Atomen verschiebt das ¹³C-Signal des mit diesen H-Atomen verknüpften Pyranose-C-Atoms nach höherem Feld:



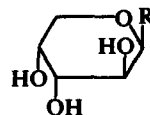
- 2: β -D-Xylose (R = OH)
4: Methyl- β -D-Xylopyranosid (R = OCH₃)
6: 9- β -D-Xylopyranosyl-adenin (R = Adenyl)



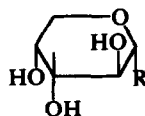
- 1: α -D-Xylose (R = OH)
3: Methyl- α -D-Xylopyranosid (R = OCH₃)
5: 9- α -D-Xylopyranosyl-adenin (R = Adenyl)



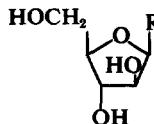
7: 9- β -D-Xylofuranosyl-adenin (R = Adenyl)



- 9: β -D-Arabinose (R = OH)
11: Methyl- β -D-arabinopyranosid (R = OCH₃)
13: 9- β -D-Arabinopyranosyl-adenin (R = Adenyl)



- 8: α -D-Arabinose (R = OH)
10: Methyl- α -D-arabinopyranosid (R = OCH₃)
12: 9- α -D-Arabinopyranosyl-adenin (R = Adenyl)



14: 9- α -D-Arabinofuranosyl-adenin (R = Adenyl)

Den Beziehungen (1)–(3) folgend wirkt sich die Konfigurationsänderung an C-1 beim Übergang zwischen den Anomeren nur geringfügig auf die ¹³C-4-Verschiebungen aus.¹⁻⁵ Neuerdings wird auch die Intensitätsänderung der Anomerensignale während der Einstellung des Mutarotationsgleichgewichts zur Signalzuordnung der

Anomeren herangezogen.³⁻⁵ Auf diese Weise lässt sich die von Perlin¹ getroffene Zuordnung im wesentlichen bestätigen. Lediglich die dicht beeinanderliegenden Signale von α - und β -C-4-im D-Xylose-spektrum wurden bisher nicht korrekt zugeordnet¹ (Tabelle 1, Abb. 1). Im ¹³C-NMR-Spektrum mutarotierter D-Arabinose kann das Vorliegen von Furanosen deutlich nachgewiesen werden (Abb. 2), wogegen der Furanosegehalt mutarotierter D-Xylose unterhalb der ¹³C-NMR-spektroskopischen Erfassungsgrenze von etwa 1% liegt (Abb. 1). Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Protonenresonanzuntersuchungen überein.⁶

Die Beziehungen¹⁻³ lassen sich zum Teil auch zur Signalzuordnung der Xylo- und Arabinopyranosyladenine (5, 6, 12, 13) heranziehen (Tabelle 3). Wie bei den Pyranosen und Methylpyranosiden¹⁻⁵ erscheinen die ¹³C-1-Signale der Xylo- und Arabinopyranosyladenine (5, 6, 12, 13)

deutlich abgesetzt von den anderen Pyranose-¹³C-Signalen bei tiefstem Feld zwischen -80 und -85 ppm (Tabellen 1, 2). Da der Elektronenzug des 9-Adenylstickstoffs an C-1 geringer ist als der von OH und OCH₃, beobachtet man in den Pyranoxyladeninen die ¹³C-1-Signale bei höherem Feld als bei den Pyranosen und Pyranosiden (Tabellen 1, 2). Die Verschiebungsdifferenz, $\delta\alpha - \delta\beta$, zwischen den Anomeren liegt mit 3.55 bis 3.75 ppm etwas unterhalb der für die Pyranosen und Pyranoside beobachteten Verschiebungsdifferenzen von 4 bis 4.4 ppm (Tabelle 3). Alle Verschiebungsdifferenzen kehren beim Übergang von Xyloederivaten (1-6) mit C 1-Konformation⁶⁻⁷ zu Arabinosederivaten (8-13) mit 1 C-Konformation⁶⁻⁷ ihr Vorzeichen um (Tabelle 3), was dem Übergang von C-1 mit axialem Substituenten zu C-1 mit äquatorialem Substituenten und umgekehrt entspricht.

Auch die ¹³C-4-Signale lassen sich leicht zuord-

Tabelle 1. Chemische ¹³C-Verschiebungen von Xylose und Derivaten gegen Tetramethylsilan (δ -Werte in ppm)

C-Atom		D-Xylose (1, 2) ppm	Methyl- α -D- xylopyranosid (3) ppm	Methyl- β -D- xylopyranosid (4) ppm	9- α -D- Xylopyranosyl- adenin (5) ppm	9- β -D- Xylopyranosyl- adenin (6) ppm	9- β -D- Xylofuranosyl- adenin (7) ppm
1	P* α	-92.3	-98.3		-80.7		
(1')	β	-96.7		-103.8		-84.25	
	F† α						-89.65
2	P α	-71.6	-71.2		-69.25 (-69.6)		
(2')	β	-74.1		-72.7		-71.65	
	F α						-75.2
3	P α	-73.0	-73.2		-67.95 (-67.55)		
(3')	β	-75.9		-75.7		-76.4	
	F α						-80.15
4	P α	-69.55	-69.35		-69.6 (-69.25)		
(4')	β	-69.35		-69.3		-68.85	
	F α						-82.95
5	P α	-61.05	-60.7		-67.55 (-67.95)		
(5')	β	-65.25		-64.7		-68.1	
	F α						-60.0
	β		-54.6	-56.6			
OCH ₃							
A‡2					-147.8	-148.35	-149.2
4					-145.1	-144.9	-147.6
5					-117.8	-118.7	-118.35
6					-150.3	-150.2	-153.1
8					-143.5	-143.05	-141.45

*P: Pyranosid.

†F: Furanosid.

‡A: Adenin.

Tabelle 2. Chemische ¹³C-Verschiebungen von Arabinose und Derivaten gegen Tetramethylsilan (δ -Werte in ppm)

C-Atom	D-Arabinose (8, 9) ppm	Methyl- α -D- arabino- pyranosid (10) ppm	Methyl- β -D- arabino- pyranosid (11) ppm	9- α -D- Arabino- pyranosyl- adenin (12) ppm	9- β -D- Arabino- pyranosyl- adenin (13) ppm	9- α -D- Arabino- furanosyl- adenin (14) ppm
1	P* α	-96.85	-104.05		-84.15	
(1')	β	-92.6		-99.95		-80.4
	F† α	-101.15				-89.2
	β	-95.2				
2	P α	-71.95	-72.50		-72.8	
(2')	β	-68.7		-69.05		-69.8
	F α	-70.25				-79.75
	β	-74.3				
	β	-75.75				
	β	-76.85				
3	P α	-72.55	-70.85		-69.8 (-69.5)	
(3')	β	-68.7		-69.05		-65.6
	F α	-70.25				-74.85
	β	-74.3				
	β	-75.75				
	β	-76.85				
4	P α	-68.55	-68.35		-69.5 (-69.8)	
(4')	β	-68.55		-68.35		-69.4
	F α	-81.5;				-85.25
	β	-83.05				
5	P α	-66.4	-66.15		-68.5	
(5')	β	-62.55		-62.6		-63.35
	F α	-61.3				-60.95
	β	-62.55				
OCH ₃		-57.1	-55.3			
A‡2				-148.45	-147.7	-148.0
4				-145.0	-144.7	-145.0
5				-118.45	-117.95	-118.9
6				-150.2	-150.1	-150.3
8				-142.85	-143.3	-142.85

*P: Pyranosid.

†F: Furanosid.

‡A: Adenin.

Tabelle 3. $\delta\alpha - \delta\beta$ (ppm)
(a) für die anomeren Xylopyranoside (C 1-Konformation)

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	OCH ₃
D-Xylopyranose 1, 2	+4.4	+2.5	+2.9	-0.2	+4.2	
Methyl-D-xylopyranosid 3, 4	+5.5	+1.5	+2.5	-0.05	+4.0	+2.0
9-D-Xylopyranosyladenin 5, 6	+3.55	+2.4	+8.45	-0.75	+0.55	
		(+2.05)	(+8.85)	(-0.40)	(+0.15)	

(b) für die anomeren Arabinopyranoside (1 C-Konformation)

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	OCH ₃
D-Arabinopyranose 8, 9	-4.25	-3.25	-3.85	0	-3.85	
Methyl-D-arabinopyranosid 10, 11	-4.10	-3.45	-1.80	0	-3.55	-1.8
9-D-Arabinopyranosyladenin 12, 13	-3.75	-3.0	-4.2	-0.1	-5.15	
			(-3.9)	(-0.4)		

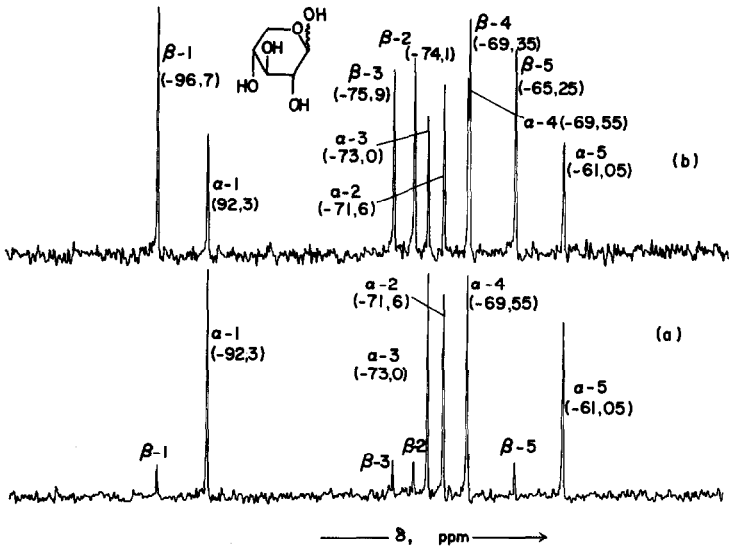


Abb 1. Puls-Fourier-Transform- ^{13}C -NMR-Spektrum von D-Xylose, 0.5 m in D_2O , Impulsintervall 0.82 Sek., (a) sofort, (b) vier Stunden nach Ansetzen der Lösung aufgenommen (ppm-Werte negativ gegen TMS ext. = 0).

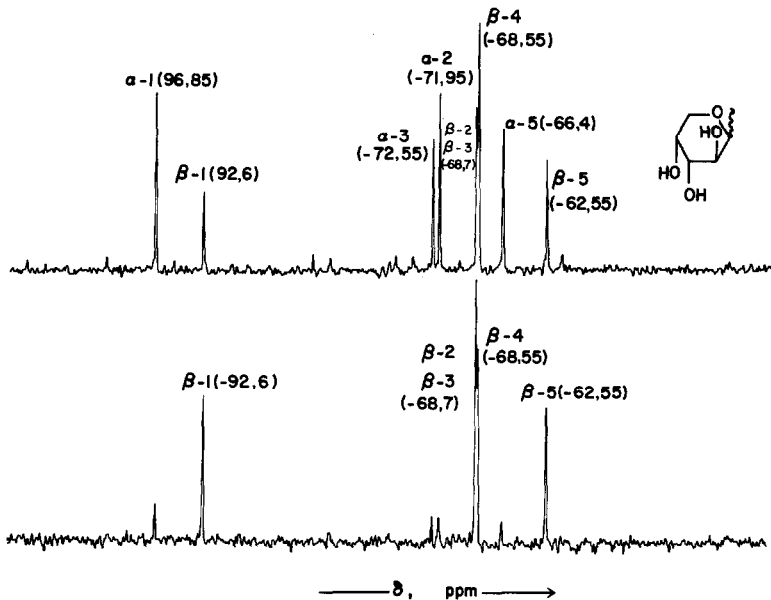


Abb 2. Puls-Fourier-Transform- ^{13}C -NMR-Spektrum von D-Arabinose, 0.5 m in D_2O , Impulsintervall 0.82 Sek., (a) sofort, (b) drei Stunden nach Ansetzen der Lösung aufgenommen (ppm-Werte negativ gegen TMS ext. = 0).

nen, da an C-4 sowohl der induktive Effekt des Substituenten an C-1 als auch dessen Konfigurationswechsel (äquatorial \rightleftharpoons axial) beim Übergang zwischen den Anomeren infolge der größten Entfernung den geringsten Einfluss hat. Deshalb beobachtet man das C-4-Signal aller hier vermessenen Xylo- und Arabinopyranoside im engen Bereich zwischen -68 und -69.6 ppm (Tabelle

1, 2). Die Anomerenverschiebungsdifferenzen $\delta\alpha - \delta\beta$ sind mit 0 bis -0.75 ppm für alle Pyranose-C-4-Atome am geringsten (Tabelle 3) in Übereinstimmung mit den Beziehungen (1)–(3).

Für die ^{13}C -Verschiebungen von C-4 und C-2 der Pyranosidanomeren ist in erster Linie der induktive Effekt des Substituenten an C-1 massgebend. Infolgedessen sind auch für die ^{13}C -C-

Signale der 9-Xylo- und 9-Arabinopyranosyladenine (5, 6, 12, 13) ähnliche Anomerendifferenzen $\delta\alpha - \delta\beta$ zu erwarten wie bei den Pyranosen und Pyranosiden¹ (Tabelle 3). Die C-2-Signale der 9-Xylo- und 9-Arabinopyranosyladenine lassen sich daher mit Hilfe der bei den entsprechenden Pyranosen und Pyranosiden gefundenen $\delta\alpha - \delta\beta$ -Werte von 1.5 bis 2.5 ppm (Xylose) bzw. -3.0 bis -3.5 ppm (Arabinose) zuordnen (Tabelle 3).

In den ^1H -off-resonance-entkoppelten ^{13}C -

NMR-Spektren der 9-Xylo- und 9-Arabinopyranosyladenine erscheinen die ^{13}C -5-Signale als Triplets, die ^{13}C -3-Signale dagegen als Dubletts. Da je Nucleosid höchstens 50 mg zur Verfügung standen, konnte bisher jedoch kein sicher auswertbares ^1H -off-resonance-entkoppeltes ^{13}C -NMR-Spektrum erhalten werden, sodass die in Tabelle 1 und 2 getroffene Zuordnung von C-3 und C-5 zunächst als Versuch zu werten ist. Auf Grund der 1-3-Diaxialbeziehung (3) fallen für die ^{13}C -3 und

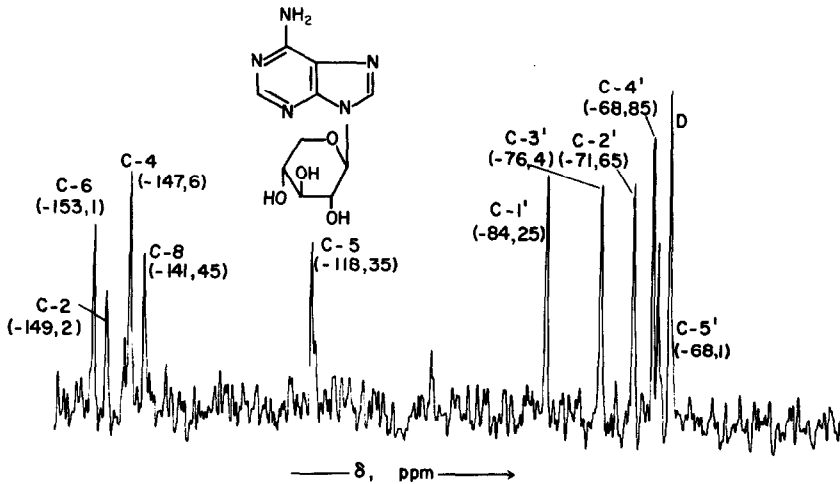


Abb 3a. Puls-Fourier-Transform- ^{13}C -NMR-Spektrum von 9- α -D-Xylopyranosyl-adenin (49 mg/ml 0.1 n HCl), 37 746 Akkumulationen, Impulsintervall 0.41 Sek. (ppm-Werte negativ gegen TMS ext. = 0), D = Dioxan-signal.

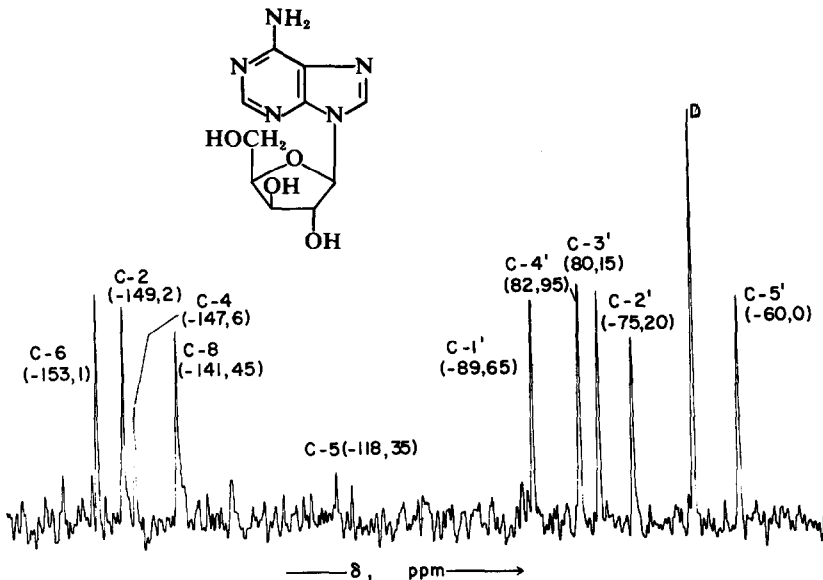


Abb 3b. Puls-Fourier-Transform- ^{13}C -NMR-Spektrum von 9- β -D-Xylopyranosyl-adenin (53 mg/ml 0.1 n HCl), 44 910 Akkumulationen, Impulsintervall 0.41 Sek. (ppm-Werte negativ gegen TMS ext. = 0), D-Dioxan-signal.

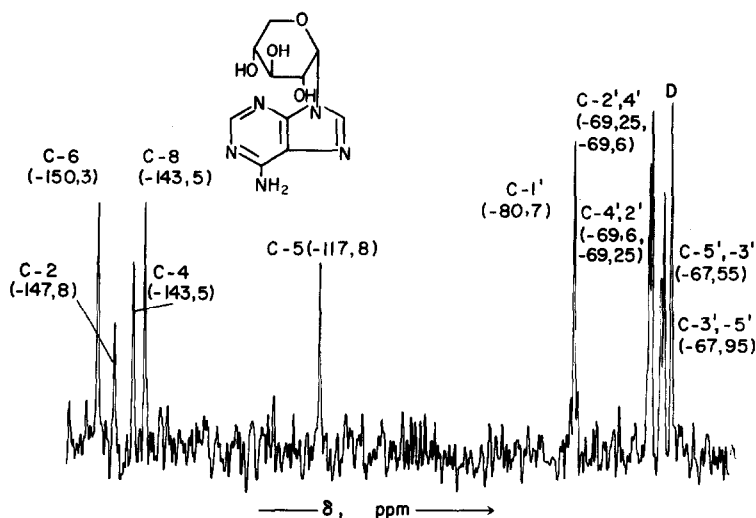


Abb 3c. Puls-Fourier-Transform- ^{13}C -NMR-Spektrum von 9- β -D-Xylofuranosyladenin (33 mg/ml 0.1 n HCl), 64 218 Akkumulationen, Impulsintervall 0.41 Sek. (ppm-Werte negativ gegen TMS ext. = 0).

^{13}C -5-Signale ausser dem induktiven Effekt des Substituenten an C-1 über Bindungen hinweg auch dessen Feldeffekte durch den Raum ins Gewicht. Für den heterocyclisch konjugierten Adenylrest dürfte dieser räumliche Feldeffekt im Gegensatz zu σ -Systemen wie OH- und OCH_3 -Gruppen besonders einflussreich auf C-3 und C-5 sein und von der Raumstruktur der Nucleoside abhängen. Die Anomalien der Verschiebungsdifferenzen $\delta\alpha - \delta\beta$ (Tabelle 3) für C-3 und C-5 könnten so erklärt werden.

Die in Tabelle 1 und 2 getroffene Signalzuordnung für 9- β -D-Xylofuranosyl-adenin (7) und 9- α -D-Arabinofuranosyl-adenin (14) folgt aus dem bereits früher zugeordneten ^{13}C -NMR-Spektrum des Adenosins⁸⁻¹⁰ (9- β -D-Ribofuranosyl-adenin). Beim Übergang von D-Ribose zu D-Xylose ändert sich die Konfiguration von C-3, zu D-Arabinose jene von C-2. Ein Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren von Adenosin,⁸⁻¹⁰ 9- β -D-Xylofuranosyl-adenin und 9- α -D-arabinofuranosyl-adenin ergibt, dass bis auf C-3' in 9- β -D-Xylofuranosyl-adenin und C-2' sowie C-3' in 9- α -D-Arabinofuranosyl-adenin die ^{13}C -Signale der übrigen Furanose-C-Atome der Furanosyl-adenine sich nicht mehr als ± 2.5 ppm unterscheiden.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Zur Aufnahme der ^{13}C -NMR-Spektren wurden von den Zuckern und Methylglykosiden 0.5 m wässrige Lösungen hergestellt. Nucleosidproben von je 30–50 mg wurden in 1 ml 0.1 n Salzsäure in 10 mm NMR-Röhrchen gelöst. Die chemischen Verschiebungen wurden gegen externes Dioxan gemessen, das sich als D_2O -Lösung

(1%) in einer zentrierten 5 mm Kapillare befand. Die erhaltenen ppm-Werte wurden auf TMS umgerechnet. D_2O diente zur ^2H -Stabilisation.

Alle ^1H -breitbandenkoppelten PFT- ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker HFX-90-Multikern-NMR-Spektrometer gemessen (22.628 MHz für ^{13}C ; 90 MHz für ^1H ; 13 MHz für ^2H ; Impulsbreite: 4–5 μ sek.; Impulsintervall: 0.41 sek. bei Nucleosiden (100 Hz/cm); 0.82 sek. bei Zuckern (50 Hz/cm)).

Die Akkumulationen der Impulsinterferogramme wurden mit einem Fabritek 1074-Rechner (4 K), die Fourier-Transformationen mit einem PDP-8-I-Rechner (4 K) durchgeführt. Die Adressendifferenzen der ^{13}C -Signale wurden digital abgelesen. Aus den Adressendifferenzen wurden die chemischen Verschiebungen maschinell berechnet.

LITERATUR

- ¹A. S. Perlin, B. Casu und H. J. Koch, *Canad. J. Chem.* **48**, 2596 (1970).
- ²D. E. Dorman und J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 1355 (1970).
- ³E. Breitmaier, G. Jung und W. Voelter, *Chimia* **25**, 362 (1971).
- ⁴W. Voelter, E. Breitmaier und G. Jung, *Angew. Chem.* **83**, 1011 (1971).
- ⁵E. Breitmaier, G. Jung und W. Voelter, *Chimia* **26**, 136 (1972).
- ⁶S. J. Angyal, *Angew. Chem.* **81**, 172 (1969).
- ⁷W. Voelter, E. Breitmaier, R. Price und G. Jung, *Chimia* **25**, 168 (1971).
- ⁸D. E. Dorman und J. D. Roberts, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **65**, 19 (1970).
- ⁹A. J. Jones, M. W. Winkley, D. M. Grant und R. K. Robins, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **65**, 27 (1970).
- ¹⁰A. J. Jones, D. M. Grant, M. W. Winkley und R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 4079 (1970).