

3.2. Badania strukturalne

W niniejszym rozdziale omówię wyniki badań właściwości strukturalnych w roztworze otrzymanych przeze mnie pochodnych wyozyiny i N4-dezmetylowyozyiny. W pierwszej kolejności przedyskutuję dane spektroskopowe NMR oraz wynikające z nich wnioski ogólne dla zmian strukturalnych. Następnie, dokonam szczegółowej analizy parametrów konformacyjnych opisujących kształt przestrzenny nukleozydów w oparciu o stałe sprzężenia oraz, w wybranych przypadkach, efekt NOE. Szczególny nacisk położyłem na dokładne określenie preferencji konformacyjnych β -rybofuranozy w zależności od zmian strukturalnych i natury rozpuszczalnika. Podjąłem także próbę określenia wzajemnych zależności pomiędzy parametrami konformacyjnymi jak i udziału czynników determinujących kształt cząsteczki w warunkach zatłoczenia przestrzennego.

3.2.1. Omówienie danych spektroskopowych NMR C2 podstawionych tricyklicznych pochodnych guanozyny

W badaniach strukturalnych związków organicznych spektroskopia NMR odgrywa od szeregu lat bardzo ważną rolę. Szczególną przydatność metoda ta znajduje między innymi w odniesieniu do większych serii związków o podobnej strukturze, co pozwala na badanie m.in. zjawiska anizotropii magnetycznej charakterystycznych grup funkcyjnych lub określonych rozpuszczalników. Zjawisko to leży u podstaw metody porównawczej, w której porównując przesunięcia chemiczne (δ) w obrębie określonej grupy związków, można wywnioskować o strukturze niektórych ich fragmentów. Tę metodę z dużym powodzeniem zastosowano w ustalaniu preferencji konformacji wokół wiązania glikozydowego w nukleozydach pirymidynowych i purynowych, analizując efekty anizotropowe w obrębie β -rybofuranozy pod wpływem modyfikacji części zasadowej.⁴⁶⁷⁻⁴⁷⁶ Jej główną zaletą jest to, że jeżeli w badanej grupie związków nie obserwuje się znaczącej różnicy przesunięć chemicznych ($\Delta\delta$) ^1H i ^{13}C określonych fragmentów, to można z dużą dozą prawdopodobieństwa postulować, że struktury tych związków są bardzo podobne. Analiza anizotropii dostarcza więc informacji ważnych, ale przybliżonych, i zasadniczo nie jest traktowana jako rozstrzygająca przy ustalaniu struktury. C2 podstawione pochodne 1,N²-izopropenoguanozyny i ich N4-metylowe analogi prezentują jeden typ pochodnych nukleozydowych. Można więc było się spodziewać, że analiza efektów anizotropowych dostarczy informacji będących podstawą do dalszych szczegółowych badań przy użyciu nowoczesnych technik.

Podstawę identyfikacji otrzymanych tricyklicznych analogów guanozyny, zarówno pochodnych N4-dezmetylowyozyiny jak i wyozyiny stanowił magnetyczny rezonans jądrowy

^1H i ^{13}C . Widma ^{15}N NMR wykonałem dla wybranych pochodnych wyozyzny. Wszystkie wartości przesunięć chemicznych otrzymanych związków zostały zebrane w **Tabelach 9-16**; dodatkowo, zarejestrowane widma zostały przedstawione na **Rysunkach 7-10 i 17-48**. Przypisania poszczególnych sygnałów ^1H , ^{13}C i ^{15}N otrzymanych związków dokonałem w oparciu o następujące techniki pomiarowe:

1. Eksperymenty 2D: ^1H - ^1H COSY (**correlations spectroscopy**), ^{13}C , ^1H HSQC (**heteronuclear single quantum coherence**), ^{13}C , ^1H HMBC (**heteronuclear multiple bond coherence**), ^{15}N , ^1H HSQC i HMBC. W oparciu o w/w techniki ustaliłem kolejność występowania sygnałów ^1H , ^{13}C i ^{15}N dla pochodnych wyozyzny oraz jej 2',3',5'-triacetylowych analogów wymienionych w **Tabeli 16**. Natomiast wartości przesunięć chemicznych uzyskiwałem na drodze standardowych pomiarów ^1H i ^{13}C . Ponadto dla serii pochodnych Wac_3 , przeprowadziłem pomiary efektu NOE oraz stałych sprzężenia ^{13}C - ^1H dalekiego zasięgu wokół wiązania glikozydowego. Wszystkie pomiary wykonywałem samodzielnie pod kierunkiem profesora Janeza Plaveca w Narodowym Instytucie Chemii w Ljubljanie (Słowenia) gdzie przebywałem na dwóch 3-miesięcznych stażach naukowych.
2. Standardowe eksperymenty 1D ^1H oraz ^{13}C , za pomocą których przypisywałem strukturę pozostałych pochodnych guanozyny, N4-dezmetylowyozyzny i wyozyzny.

Nieblokowane analogi N4-dezmetylowyozyzny jak i wyozyzny charakteryzują się dobrą rozpuszczalnością w DMSO oraz DMF, natomiast ich rozpuszczalność w wodzie oraz w pozostałych, najczęściej stosowanych w rejestracji widm NMR rozpuszczalnikach organicznych jest ograniczona. Wprowadzenie blokad acetylowych na grupy hydroksylowe rybozy pochodnych układu wyozyzny rozszerzyło znacznie zakres wyboru rozpuszczalników. Umożliwiło mi to pomiary widm ^1H NMR w dwóch, znacząco różniących się polarnością rozpuszczalnikach- DMSO- d_6 i CDCl_3 , co nie pozostało bez wpływu na wartości przesunięć chemicznych protonów jak i wicynalne stałe sprzężenia ^1H - ^1H w części cukrowej. Ponadto, widma ^1H pochodnych triacetylowych wyozyzny z racji braku sygnałów pochodzących od wymienialnych protonów grup hydroksylowych są łatwiejsze w uzyskaniu wicynalnych stałych sprzężeń pomiędzy protonami β -rybofuranozy.

3.2.1.1. Widma ^1H , ^{13}C NMR pochodnych N4-dezmetylowyozyzny

Przypisanie stuktury C2 podstawionych pochodnych N4-dezmetylowyozyzny (V) i jej triacetylo analogów (Vac_3) przeprowadziłem na podstawie standardowych pomiarów ^1H i ^{13}C NMR w DMSO- d_6 . Dla uzyskania jednoznaczności przypisań, widma ^1H nieblokowanych pochodnych V zostały dodatkowo zarejestrowane w obecności D_2O , natomiast w przypadku

rejestracji sygnałów ^{13}C zastosowałem również technikę sprzęgania z protonami. Wszystkie wartości przesunięć zebrałem w **Tabelach 9-11**, dodatkowo fragmenty widm ^1H NMR obejmujące część cukrową nieblokowanych pochodnych V przedstawiłem na **Rysunku 7**.

Dane spektroskopowe ^1H i ^{13}C NMR dla V i Vac₃ są w pełni zgodne z danymi literaturowymi.^{455,477} W serii nieblokowanych C2 podstawionych pochodnych N4-dezmetylowozyzyny największą zmienność przesunięcia chemicznego wykazywał proton H2', oraz w nieco mniejszym stopniu H3'. Generalnie sekwencja sygnałów H1'-H5'' w widmach pochodnych pozostaje identyczna z obserwowaną dla V. (**Rysunek 7**, str. 119; **Tabela 9**, str. 120-1). Niezależnie od charakteru podstawnika w C2 sygnał H2' ulegał przesunięciu w stronę niższego pola o 0.4~0.6 ppm. Największe zmiany w przesunięciu H2' stwierdziłem w 2-BrV (0.66 ppm), pochodnych siarkowych: 2-HSV i 2-MeSV (0.54 ppm). W pozostałych związkach wielkość zmian nie przekracza 0.4 ppm. Efekt odsłaniania protonu H2' można przypisać działaniu dwojakich czynników:

- a) wpływ podstawnika w pozycji C2;
- b) wpływ wolnej pary elektronowej N3 lub/i prądu pierścieniowego fragmentu pirymidynowego zasady wskutek ustawienia się płaszczyzny zasady w orientacji *syn*.

Dane krystalograficzne 8-podstawionych pochodnych nukleozydów purynowych jednoznacznie wskazują na wymuszenie przez podstawnik obrotu płaszczyzny zasady w stronę regionu *syn*.^{132-134,136-143,145-150} W przypadku roztworu, przyjmuje się że istnieje równowaga pomiędzy obiema orientacjami. Jednokierunkowość zmian położenia sygnału H2' mogłaby wskazywać na istnienie zbliżonego otoczenia chemicznego wokół tego protonu w omawianych związkach, czyli większej preferencji do przyjmowania orientacji *syn*.⁴⁷²⁻⁴⁷⁶ Szczegółowe omówienie preferencji *syn/anti* przedstawię w rozdziale 3.2.2.

Zmiany przesunięcia sygnału H1' i H3' nie były znaczące i nie przekraczały 0.1 ppm, jedynie dla 2-HSV wartość ta wynosiła odpowiednio 0.57 i 0.17 ppm w stronę słabszego pola. Położenie sygnału H4' w 2-BrV, 2-MeV i 2-MeSV było identyczne z V. Natomiast w pochodnych tlenowych i 2-HSV sygnał H4' pojawiał się w nieco silniejszym polu (0.07 ppm). Mała zmienność δ sygnału H3' może świadczyć o zbliżonym otoczeniu chemicznym. Podobnie jak w przypadku H4', wartości przesunięć chemicznych H5'/H5'' były bardzo zbliżone do wartości dla V, jedynie w 2-BnOV i 2-MeOV zmiana ta wynosi o ok 0.1 ppm w stronę wyższego pola (**Rysunek 7**, str. 119). Sekwencja δ grup hydroksylowych w C2 podstawionych pochodnych jest identyczna z sekwencją dla V, obserwowane zmiany przesunięć są nieznaczne (0.1~0.2 ppm).

Wprowadzenie blokad acetylowych na grupach hydroksylowych znacząco przesunęło położenie sygnałów protonów części cukrowej w stronę słabszego pola. Największe różnice

w przesunięciach względem nieblokowanych analogów wykazywały protony H2' i H3' (1~1.5 ppm) oraz H5'/H5'' (0.6~0.8 ppm), co można przypisać efektowi odsłaniania grup acetylowych. W przypadku δ sygnału H2' należy także uwzględnić efekt odsłaniania spowodowany podstawieniem w C2. Natomiast zmiany położenia sygnałów H1' i H4' są zdecydowanie mniejsze (0.2~0.4 ppm). Rezultatem wyżej wymienionych różnic jest zmiana sekwencji sygnałów H1' i H2' oraz H4' i H5' w C2 podstawionych pochodnych tzn. sygnały H1' i H4' pojawiają się w silniejszym polu odpowiednio względem H2' i H5'. Jedynie w 2-MeVac₃ sygnały H1' i H2' nakładają się. Z kolei dla Vac₃ różnice te dotyczą tylko H4' i H5'. Zmiany wartości δ^H sygnałów H1'-H5'' względem Vac₃ w obrębie triacetylowych C2 podstawionych pochodnych nie przekraczają 0.3 ppm, i są największe dla H2' i H1'. Kierunek tych zmian δ^H jest taki sam jak w nieblokowanych związkach, jednak ich wielkość jest mniejsza. Obecność czwartej grupy acetylowej w pozycji N5 (2-MeVac₄ i 2-MeSVac₄) wywołuje dodatkowe zwiększenie różnicy δ^H dla H2', z kolei sygnał H3' pojawia się w nieznacznie silniejszym polu (0.1 ppm).

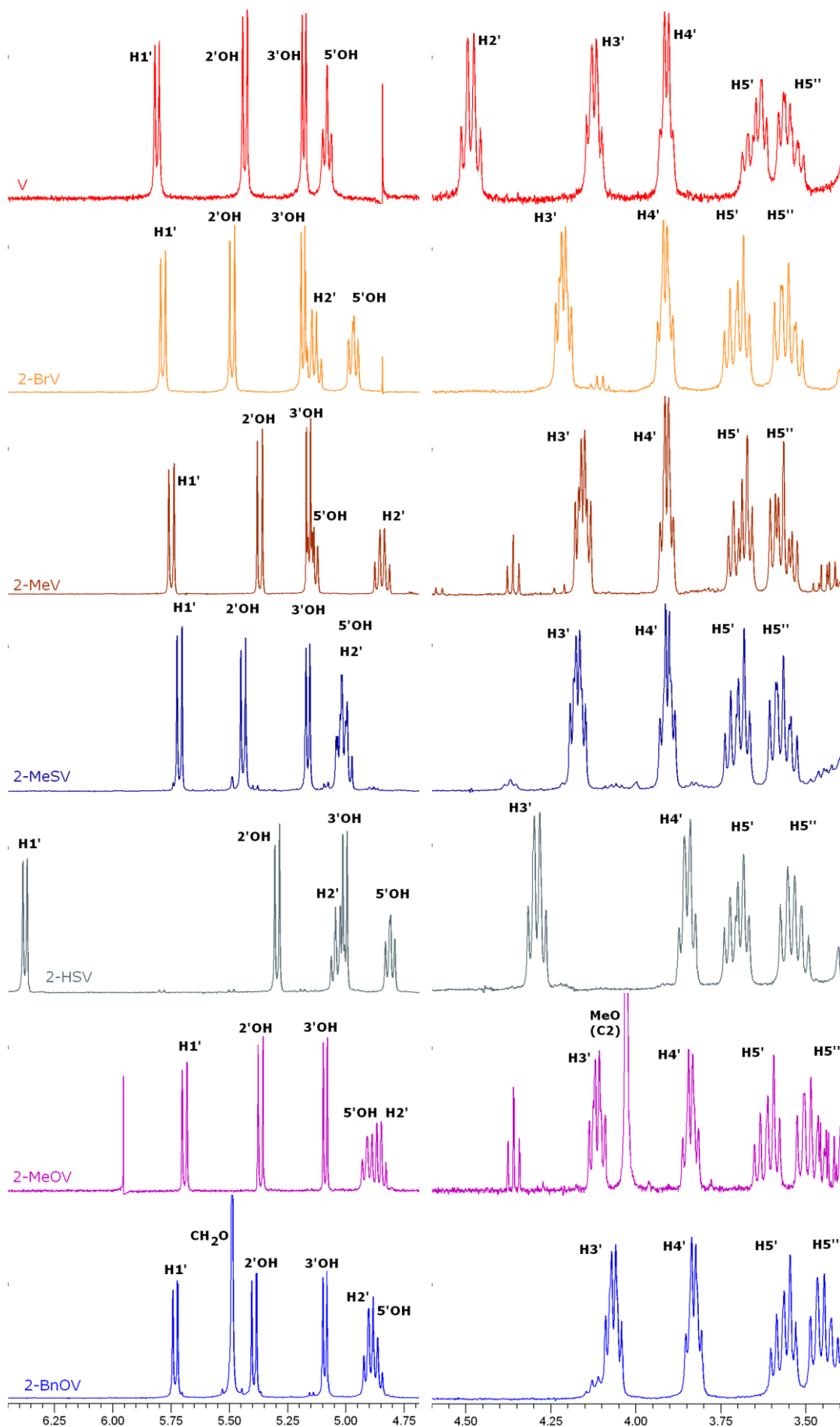
Zmiany δ^H części zasadowej tj. H7, grupy metylowej (C6) zarówno pochodnych triacetylo jak i N4-dezmetylwozyny nie przekraczały 0.1 ppm. W przypadku tetracetylowych pochodnych tj. 2-MeSVac₄ i 2-MeVac₄ różnice te są nieco większe i wynoszą 0.2~0.3 ppm w stronę słabszego pola. Położenie sygnałów protonów podstawników w C2 różnią się nieznacznie ($\Delta\delta \cong 0.1$ ppm) od przypisań dla pochodnych guanozyny podstawionych w pozycji C8.

Analizując widma ¹³C NMR części cukrowej omawianej serii związków nie stwierdziłem tak znaczących różnic jak w przypadku widm ¹H NMR. (Tabela 10, str. 122) Generalnie, kolejność występowania sygnałów ¹³C w C2 podstawionych pochodnych jest identyczna z macierzystą strukturą. Charakterystyczną i powtarzającą się zmianą we wszystkich pochodnych jest zbliżenie się do siebie sygnałów C2' i C3'. W przypadku V i Vac₃ $\Delta\delta$ między C2' a C3' wynosi odpowiednio 3.3 i 1.8 ppm, natomiast w C2 podstawionych pochodnych nieblokowanych różnica ta spada do 0.1~0.5 ppm, jakkolwiek w acetylowych pochodnych zakres ten zwiększa się do 0.9~1.4 ppm. Położenie sygnału C3' w pochodnych V ulega minimalnym zmianom (od -0.1 do 0.2 ppm), natomiast w pochodnych Vac₃ zakres zmian jest większy- od -1.66 ppm do 0.6 ppm. Dane literaturowe wskazują jednoznacznie na powiązanie tego rodzaju zmian w 8-podstawionych pochodnych nukleozydach purynowych z preferencją orientacji *syn*.^{470,471,474} Uważam, że kryterium $\Delta\delta$ sygnałów C2' i C3' może także mieć zastosowanie do przybliżonego określenia orientacji *syn/anti* w C2 podstawionych pochodnych N4-dezmetylwozyny. Szczegółowe omówienie preferencji *syn/anti* znajduje się w rozdziale 3.2.2. Wielkość i kierunek zmian δ sygnałów C1', C4' i C5' nie jest

jednakowy w omawianych analogach N4-dezmetylowyozyny. Sygnał C1' pojawia się w słabszym polu, różnica ta wynosi 1.1~2.1 ppm w 2-MeV, 2-MeSV i 2-HSV oraz 3.4 ppm w 2-BrV. Natomiast w 2-MeOV i 2-BnOV kierunek zmian jest przeciwny (0.2~0.4 ppm). Sygnał C4' pojawia się w słabszym polu w 2-MeOV, 2-MeSV, 2-MeV i 2-BrV, $\Delta\delta$ wynosi 0.1~0.6 ppm, z kolei w 2-BnOV i 2-HSV - w silniejszym polu (0.1~0.2 ppm). Sygnał C5' pojawia się w słabszym polu niezależnie od rodzaju podstawnika (0.5~1 ppm). Wprowadzenie grup acetylowych wywiera niewielki wpływ na położenie C2', C3' i C5', zakres zmian nie przekracza 0.5 ppm, jedynie w Vac₃ oraz 2-MeVac₃ sygnał C5' przesuwa się o 1.8 i 1.0 ppm w stronę słabszego pola w porównaniu z V i 2-MeV. Zdecydowanie większe zmiany w przesunięciach można zauważyć dla sygnałów C1' i C4', które pojawiają się w silniejszym polu po wprowadzeniu grup acetylowych. Różnice te nie są jednakowe, dla C4' zmiany te są większe (5.6~6.7ppm) niż C1' (1.8~2.7 ppm; 0.3 ppm dla Vac₃). Należy podkreślić że, sekwencja sygnałów C1'-C5' we wszystkich C2 podstawionych pochodnych w porównaniu z V i Vac₃ pozostaje bez zmian.

Obecność podstawników w pozycji C2 zasady znacząco wpłynęła na położenie sygnałów C2, C9a i C3a, czyli „lewego” pierścienia imidazolowego N1-C2-N3-C3a-C9a. Przesunięcia chemiczne węgla pozostałego fragmentu zasady pokrywają się z wartościami δ dla V i Vac₃ (Tabela 11, str. 122-3). Największe zmiany przesunięć obserwuję dla sygnału C2, który pojawia się w słabszym polu. Wielkość $\Delta\delta$ sygnału C2 wyraźnie zależy od charakteru podstawnika. Dla 2-HSV różnica ta jest największa i wynosi 30 ppm. W pochodnych tlenowych $\Delta\delta$ sygnału C2 jest mniejsze i wynosi 13~15 ppm. Podstawniki metylo oraz metylio wywierają najslabszy wpływ odsłaniający (8~9 ppm). Natomiast sygnał C9a ulega przesunięciu w stronę silniejszego pola, zmiany te dotyczą tylko pochodnych tlenowych i 2-HSV. Różnica ta jest większa dla pochodnej merkaptu (12 ppm), natomiast dla analogów tlenowych: 5~6 ppm. W pozostałych związkach $\Delta\delta$ sygnału C9a są zdecydowanie mniejsze. Sygnał C3a w najmniejszym stopniu był podatny na zmiany (1~2 ppm), z tendencją do występowania w słabszym polu. Położenia sygnałów pozostałych atomów węgla były niemal takie same, różnice nie przekraczały 1 ppm, z wyjątkiem związku 2-HSV, którego sygnał C9 pojawia się w słabszym polu (6 ppm). Kierunek $\Delta\delta$ sygnałów C2, C3a i C9a omawianych pochodnych N4-dezmetylowyozyny jest zbieżny z kierunkiem $\Delta\delta$ sygnałów C8, C4 i C5 stwierdzonych w odpowiednio C8 podstawionych purynach.⁴⁷⁰ Nie stwierdziłem żadnych znaczących różnic w przesunięciach ¹³C pierścienia zasady pomiędzy acetylowymi i odblokowanymi pochodnymi N4-dezmetylowyozyny.

Rysunek 7. Widma ^1H NMR części cukrowej N-4-dezmetylwozyzyny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6 T=25°C)



3. Badania własne

Tabela 9. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR N-4-dezmetylwoyozyiny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6)

	H1'	H2'	H3'	H4'	H5'	H5''	H5	H7	$^6\text{CH}_3$	R2	OH (2',3',5')	CH ₃ Acetyl
V	5.81 d, 1H	4.48 q, 1H	4.12 q, 1H	3.91 q, 1H	3.69- 3.62 m, 1H	3.59- 3.51 m, 1H	12.37 brs, 1H	7.36 d, 1H	2.26 d, 1H	8.13 s, 1H	5.43 d, 1H 5.18 d, 1H 5.08 t, 1H	—
2-BrV	5.78 d, 1H	5.14 dd, 1H	4.22 q, 1H	3.91 q, 1H	3.74- 3.67 m, 1H	3.59- 3.51 m, 1H	12.57 brs, 1H	7.39 d, 1H	2.26 d, 3H	—	5.49 d, 1H 5.19 d, 1H 4.97 dd, 1H	—
2-MeOV	5.69 d, 1H	4.86 q, 1H	4.12 q, 1H	3.84 q, 1H	3.65- 3.58 m, 1H	3.53- 3.45 m, 1H	12.37 brs, 1H	7.34 d, 1H	2.25 d, 1H	4.03 s, 3H	5.37 d, 1H 5.09 d, 1H 4.91 t, 1H	—
2-BnOV	5.73 d, 1H	4.89 dd, 1H	4.06 q, 1H	3.83 q, 1H	3.60- 3.53 m, 1H	3.49- 3.41 m, 1H	12.39 brs, 1H	7.35 d, 1H	2.26 d, 3H	5.49 t, 2H 7.53- 7.50 m, 2H 7.46- 7.38 m, 3H	5.39 d, 1H 5.09 d, 1H 4.87 t, 1H	—
2-MeSV	5.71 d, 1H	5.02 q, 1H	4.17 q, 1H	3.93- 3.89 m, 1H	3.74- 3.67 m, 1H	3.61- 3.53 m, 1H	12.43 brs, 1H	7.38 d, 1H	2.25 d, 1H	2.65 s, 3H	5.44 d, 1H 5.16 d, 1H 5.02 t, 1H	—
2-HSV	6.38 d, 1H	5.03 q, 1H	4.29 q, 1H	3.85 q, 1H	3.74- 3.67 m, 1H	3.58- 3.50 m, 1H	12.71 brs, 1H	7.41 d, 1H	2.26 d, 1H	13.12 brs, 1H	5.30 d, 1H 5.00 d, 1H 4.81 dd 1H	—
2-MeV	5.75 d, 1H	4.85 q, 1H	4.18- 4.14 m, 1H	3.91 q, 1H	3.73- 3.66 m, 1H	3.61- 3.53 m, 1H	12.33 brs, 1H	7.34 d, 1H	2.25 d, 1H	2.47 s, 3H	5.37 d, 1H 5.16 d, 1H 5.15 dd, 1H	—
Vac₃	6.13 d, 1H	5.93 t, 1H	5.54 t, 1H	4.38- 4.34 m, 1H	4.44- 4.39 m, 1H	4.31- 4.25 m, 1H	12.45 brs, 1H	7.38 d, 1H	2.27 d, 1H	8.12 s, 1H	—	2.13, s, 3H 2.04, s, 3H 2.03, s, 3H

3. Badania własne

Tabela 9. c.d.

	H1'	H2'	H3'	H4'	H5'	H5''	H5	H7	⁶ CH ₃	R2	OH (2',3',5')	CH ₃ Acetyl
2-BrVac₃	6.01 d, 1H	6.20 dd, 1H	5.68 t, 1H	4.39- 4.34 m, 1H	4.47- 4.42 dd, 1H	4.25- 4.19 dd, 1H	12.61 brs, 1H	7.41 d, 1H	2.26 d, 3H	—	—	2.13, s, 3H 2.07, s, 3H 1.96, s, 3H
2-MeOVac₃	5.92 d, 1H	6.04 t, 1H	5.53 t, 1H	4.32- 4.27 m, 1H	4.40- 4.36 dd, 1H	4.20- 4.15 dd, 1H	12.44 brs, 1H	7.36 d, 1H	2.26 d, 1H	4.06 s, 3H	—	2.12, s, 3H 2.05, s, 3H 1.99, s, 3H
2-BnOVac₃	5.95 d, 1H	6.05 t, 1H	5.48 t, 1H	4.31- 4.27 m, 1H	4.36- 4.31 m, 1H	4.14- 4.08 m, 1H	12.45 brs, 1H	7.37 d, 1H	2.26 d, 3H	5.53 dd, 2H 7.54- 7.51 m, 2H 7.44- 7.38 m, 3H	—	2.11, s, 3H 2.05, s, 3H 1.91, s, 3H
2-MeSVac₃	5.97 d, 1H	6.12 dd, 1H	5.60 t, 1H	4.38- 4.33 m, 1H	4.48- 4.42 dd, 1H	4.25- 4.19 dd, 1H	12.51 brs, 1H	7.39 d, 1H	2.26 d, 1H	2.66 s, 3H	—	2.13, s, 3H 2.04, s, 3H 1.99, s, 3H
2-MeSVac₄	6.00 d, 1H	6.18 dd, 1H	5.42 t, 1H	4.40- 4.36 m, 1H	4.44- 4.40 m, 1H	4.19- 4.13 m, 1H	—	7.66 d, 1H	2.46 d, 1H	2.70 s, 3H	—	2.12, s, 3H 2.05, s, 3H 1.97, s, 3H 2.90 s, 3H
2-MeVac₂	6.03 d, 1H	6.02 m, 1H	5.53 t, 1H	4.18 q, 1H	3.78- 3.70 m, 1H	3.70- 3.62 m, 1H	12.44 brs, 1H	7.35 d, 1H	2.25 s, 3H	2.50 s, 3H	5.29 t, 1H	2.15, s, 3H 2.01, s, 3H
2-MeVac₃	6.04 d, 1H	6.01 dd, 1H	5.67 t, 1H	4.36- 4.31 m, 1H	4.45- 4.40 dd, 1H	4.28- 4.22 dd, 1H	12.40 brs, 1H	7.35 d, 1H	2.26 d, 1H	2.46 s, 3H	—	2.14, s, 3H 2.06, s, 3H 1.97, s, 3H
2-MeVac₄	6.08 d, 1H	6.23 dd, 1H	5.44 t, 1H	4.36- 4.31 m, 1H	4.41- 4.36 dd, 1H	4.18- 4.12 dd, 1H	—	7.62 d, 1H	2.46 s, 3H	2.52 s, 3H	—	2.12, s, 3H 2.07, s, 3H 1.93, s, 3H 2.90 s, 3H

3. Badania własne

Tabela 10. Przesunięcia chemiczne ^{13}C NMR części cukrowej N4-dezmetrylowoizyny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6)

	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C=O (Acetyl)	CH ₃ (Acetyl)
V	86.88	73.57	70.30	85.25	61.30	-----	-----
2-MeOV	86.62	70.66	70.52	85.31	62.11	-----	-----
2-BnOV	86.46	70.45	70.33	85.11	61.98	-----	-----
2-MeSV	88.44	70.55	70.28	85.65	62.00	-----	-----
2-HSV	88.96	70.64	70.20	85.04	62.28	-----	-----
2-MeV	87.98	70.90	70.37	85.48	61.79	-----	-----
2-BrV	90.27	70.45	70.27	85.87	62.04	-----	-----
Vac₃	85.60	72.21	70.43	79.62	63.11	170.13 169.52 169.34	20.50 20.37 20.24
2-MeOVac₃	83.94	70.57	69.69	78.57	62.46	169.93 169.36 169.31	20.35 20.25 20.14
2-BnOVac₃	84.05	70.60	69.63	78.48	62.46	169.86 169.29 169.29	20.22 20.22 20.12
2-MeSVac₃	85.96	70.53	69.62	78.99	62.51	170.02 169.51 169.34	20.47 20.31 20.17
2-MeVac₃	86.20	71.33	69.90	78.76	62.81	170.05 169.58 169.51	20.39 20.31 20.31

Tabela 11. Przesunięcia chemiczne ^{13}C NMR części zasadowej N4-dezmetrylowoizyny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6)

	C2	C3a	C4a	C6	C7	C9	C9a	2-X	6-CH ₃
V	137.15	149.75	145.44	126.18	103.20	151.05	115.47	-----	10.44
2-MeOV	152.56	149.14	144.44	126.14	103.60	150.35	110.16	56.90	10.55
2-BnOV	151.41	148.77	144.30	125.81	103.34	149.97	109.85	70.65 128.04 128.23 128.39 135.67	10.36
2-MeSV	145.75	151.08	144.42	126.28	103.42	149.84	115.77	14.52	10.40
2-HSV	167.17	147.62	144.36	126.88	103.80	144.99	103.25	-----	10.42
2-MeV	146.14	150.27	144.64	126.05	103.20	150.48	114.11	14.62	10.38
2-BrV	122.56	149.86	144.77	125.57	103.54	150.24	116.16	-----	10.29

Tabela 11. Cd

Związek	C2	C3a	C4a	C6	C7	C9	C9a	2-X	6-CH ₃
Vac ₃	137.40	149.71	145.76	126.48	103.55	151.19	115.94	----	10.53
2-MeOVac ₃	151.39	148.51	144.43	125.91	103.47	149.94	109.74	56.87	10.36
2-BnOVac ₃	150.58	148.45	144.44	125.91	103.48	149.91	109.68	71.05 135.46 128.40 128.28 128.04	10.36
2-MeSVac ₃	145.00	151.00	144.68	126.37	103.65	149.86	115.54	14.68	10.44
2-MeVac ₃	145.71	150.14	144.88	126.22	103.38	150.51	114.04	14.20	10.46

3.2.1.2. Widma ¹H, ¹³C i ¹⁵N NMR pochodnych wyozyiny

Przesunięcia chemiczne sygnałów ¹H NMR dla W w DMSO-d₆ oraz Wac₃ w CDCl₃ są w pełni zgodne z danymi literaturowymi (Tabela 12 i 13).^{455,477} W przypadku widma ¹H NMR Wac₃ zarejestrowanego w DMSO-d₆ sekwencja sygnałów ¹H pozostaje identyczna z widmem uzyskanym w CDCl₃. Wzrost polarności rozpuszczalnika wywarł największy wpływ na wartość przesunięcia chemicznego H2 części zasadowej, przesuując o 0.44 ppm w stronę niższego pola. Zmiany te pokazują wyraźną podatność protonu H2 na odsłaniające oddziaływanie rozpuszczalnika w przeciwieństwie do protonu H7, którego położenie pozostało bez zmian. Prawdopodobnie proton H2 bierze udział w słabym wiązaniu wodorowym z DMSO-d₆, na co wskazywałoby przesunięcie sygnału H2 o 0.12 ppm w stronę wyższego pola, wraz ze wzrostem temperatury w zakresie 298-358°K. W przypadku protonu H7 zmiana ta wynosiła 0.05 ppm. Kolejną, wyraźną różnicę przesunięć w stronę niższego pola wywołaną zmianą rozpuszczalnika stwierdziłem dla protonu H1' (0.23 ppm), dla pozostałych sygnałów różnice nie przekraczały wartości 0.1 ppm.

Wprowadzenie podstawników w pozycję C2 wyozyiny wywarło znaczący wpływ na δ^H i δ^C zarówno w obrębie części cukrowej jak i części zasadowej. Rejestracja widm ¹H NMR acetylowych pochodnych wyozyiny (DMSO-d₆ i CDCl₃) oraz ich nieblokowanych odpowiedników (DMSO-d₆) pozwoliła na przeanalizowanie zjawiska anizotropii protonów pierścienia β -rybofuranozy w kontekście zarówno wpływu rodzaju podstawnika w C2, obecności grup blokujących jak i polarności rozpuszczalnika.

Widma ¹H NMR 2-MeWac₃ i 2-MeSWac₃ charakteryzują się znacznymi różnicami przesunięć w porównaniu z widmem ¹H NMR Wac₃. (Tabela 12, str. 131-2; Rysunek 8 i 9,

str. 128-9) Największą $\Delta\delta$ w stronę wyższego pola wykazywał proton H2' (0.22~0.33). Efekt przesłaniania H2' jest większy dla grupy Me niezależnie od rodzaju rozpuszczalnika. W przypadku grupy metylotiolowej, efekt ten jest mniejszy w CDCl₃, a w przypadku DMSO-d₆ nawet niezauważalny. Warto zauważyć że kierunek zmian δ^H sygnału H2' jest przeciwny do obserwowanego w analogicznych pochodnych N4 dezmetrylo. Świadczy to o odmiennym otoczeniu chemicznym wokół H2' w układzie N4-dezmetrylo i wyozyzny, co prowadzi do wniosku iż orientacja wokół wiązania glikozydowego w obu układach jest odmienna. Sekwencja sygnałów protonów H1', H2' i H3' pozostaje bez zmian, obserwowałem jedynie zmianę kolejności występowania H4' i H5'/5'' w zależności od podstawnika i polarności rozpuszczalnika. Efekt ten jest wyraźniejszy dla grupy MeS, która to powoduje przesunięcie sygnału H5' o 0.2 ppm w stronę niższego pola, a jednocześnie H4' w stronę wyższego (0.1 ppm). W rezultacie kolejność sekwencji omawianych sygnałów (od strony niższego pola) jest następująca: H5'-H4'-H5'' dla DMSO-d₆ oraz H5'-H5''-H4' dla CDCl₃. Ponadto, nastąpiło rozsuniecie sygnałów H5' i H5'' od siebie, prowadząc do ujawnienia struktury ich rozszczepienia jako dubletu dubletów. To wyraźne rozróżnienie sygnałów protonów H5'/H5'' mogłoby wskazywać na zahamowanie rotacji wokół wiązania C4'-C5', a więc preferowanie takiego rotameru w którym jeden z protonów znajduje się pod wpływem efektu odsłaniania przez atom siarki. W 2-MeWac₃ sekwencja sygnałów H4' i H5'/H5'' uległa zamianie jedynie w CDCl₃ wskutek przesunięcia sygnału H4' o 0.17 ppm, natomiast struktura rozszczepienia jest podobna do obserwowanej w Wac₃. Polarność rozpuszczalnika ma wyraźny wpływ na przesunięcia chemiczne protonów związanych z atomami tlenu, azotu czy też siarki, w przypadku atomów węgla zmiany te są mniejsze ale zauważalne.⁴⁷⁸ Wartość stałej dielektrycznej DMSO-d₆ i CDCl₃ wynosi odpowiednio $\epsilon=46.7$ i 4.806, więc można było się spodziewać zmian w widmach ¹H NMR. Największą różnicę przesunięć chemicznych stwierdziłem dla H1' (0.2~0.3 ppm), sygnały pozostałych protonów wykazywały mniejszą różnicę (0.1~0.2 ppm). Najmniejszą podatność na zmianę polarności wykazywał H7: 0.05 ppm.

Usunięcie grup acetylowych w bardzo znaczący sposób zmieniło położenie sygnałów protonów części cukrowej w 2-MeW i 2-MeSW o 0.8-1.3 ppm w stronę wyższego pola (**Tabela 13**, str. 133; **Rysunek 10**, str. 130). Dane spektroskopowe ¹H i ¹³C NMR dla zsyntetyzowanej przeze mnie 2-MeW pokrywają się z danymi dla tego związku otrzymanego uprzednio z Pracowni Chemii Nukleozydów odmienną metodą.³¹ Wielkość tych zmian wiąże się z brakiem silnego, odsłaniającego wpływu grupy karbonylowej na H2', H3' i H5'/H5''. Sekwencja sygnałów ¹H części cukrowej w obu powyższych pochodnych wyozyzny jest identyczna z obserwowaną dla wyozyzny, różnice przesunięć nie przekraczają 0.1 ppm, a więc

są znacznie mniejsze w porównaniu z blokowanymi analogami. Wpływ podstawienia w C2 na δ^H sygnałów H1'-H5' w 2-MeW oraz 2-MeSW jest mniej wyraźny w porównaniu z analogicznymi N4-dezmetylo pochodnymi.

Spośród pochodnych tlenowych wyożyny, widma 1H NMR 2-OWac₃ oraz N1-Me-2-OWac₃ są niemal identyczne i charakteryzują się największymi zmianami w porównaniu z związkiem macierzystym, Wac₃. Podobnie jak w wyżej omówionych związkach, charakter rozpuszczalnika nie pozostawał bez wpływu na wartość przesunięć. W pierwszej kolejności omówię widma 1H NMR wykonane w CDCl₃. W części cukrowej obserwuję zamianę sekwencji sygnałów dla H1' i H2' (**Tabela 12a**, str. 131; **Rysunek 8**, str. 128). Sygnał H1' uległ przesunięciu w stronę wyższego pola (0.3 ppm), natomiast sygnał H2'-w stronę niższego (0.45 ppm), co prowadzi do zmiany kolejności występowania sygnałów na widmie w porównaniu z Wac₃. W przypadku 2-MeO- i 2-BnOWac₃ różnice δ^H sygnałów H1' i H2' są mniej wyraźne i wynoszą odpowiednio: 0.18 i 0.21 ppm dla H1' oraz 0.16 i 0.09 ppm dla H2'. Kierunek $\Delta\delta$ sygnałów wyżej wymienionych w obu związkach jest taki sam jak w pochodnych 2-okso, jednak ich sekwencja w widmie 2-MeO- i 2-BnOWac₃ jest identyczna z Wac₃. Sygnał H3' w N1-Me-2-OWac₃ i 2-OWac₃ występuje w niższym polu (0.25 ppm), natomiast w 2-BnOWac₃ pojawia się on w wyższym polu (0.2 ppm). Położenie sygnału H3' w 2-MeOWac₃ pozostaje bez zmian. Takie zróżnicowanie położenia sygnałów H2' i H3' w obrębie tlenowych analogów wskazywałoby na istnienie odmiennego wpływu odsłaniania przez atom tlenu w C2. W przypadku N1-Me-2-OWac₃ oraz 2-OWac₃, wolne pary elektronowe atomu tlenu O2 muszą się znajdować w znacznie bliższym sąsiedztwie protonów H2' i H3', aniżeli w 2-MeO- i 2-BnOWac₃. Prowadzi to do wniosku, że orientacja wokół wiązania glikozydowego w 2-MeO- i 2-BnOWac₃ jest odmienna od dwóch pozostałych analogów tlenowych, aczkolwiek nadal w rejonie *anti*. Analogiczny kierunek zmian w przesunięciach H2' obserwowano w 6-podstawionych pochodnych nukleozydów pirymidynowych, wskutek efektu anizotropowego grupy O2.^{467,468} W przypadku δ^H protonu H1', jego wyraźnego przesunięcia w stronę silniejszego pola nie można tłumaczyć bezpośrednim oddziaływaniem wolnych par elektronowych tlenu w C2. Prawdopodobnie jest to spowodowane zmianą dystrybucji gęstości π elektronów w części zasadowej co indukuje polaryzację wzdłuż wiązań N3-C1'-H1'. Efekt ten jest wyraźniejszy w pochodnych okso aniżeli alkoksylowych, natomiast w pochodnej metylo i metylotiolowej jest bardzo słaby.

Obecność tlenu w położeniu C2 wpływa znacząco na δ^H oraz kolejność występowania sygnałów H4'-H5'-H5''. W Wac₃ sygnały H5'/H5'' są do siebie bardzo zbliżone tworząc wskutek efektu daszkowego wysoki dublet dubletów z sąsiadującymi po obu stronach dubletami o niskiej intensywności, natomiast sygnał H4' występuje jako kwartet w niższym

polu. Spośród pochodnych tlenowych największe różnice δ^H sygnału H4' w stronę wyższego pola zaobserwowałem dla 2-BnOWac₃ (0.25 ppm), w pozostałych związkach zmiany te wynoszą około 0.1~0.15 ppm. Sygnał H5' w 2-MeOWac₃, N1-Me-2-OWac₃, 2-OWac₃ ulega przesunięciu w stronę niższego pola (0.1-0.2 ppm), natomiast dla 2-BnOWac₃ w stronę wyższego pola (0.16 ppm). Z kolei zmiany położenia sygnału H5'' zauważalne są jedynie w 2-BnOWac₃ - 0.35 ppm w stronę wyższego pola. W rezultacie wyżej przedstawionych zmian identyczną z Wac₃ sekwencję H4'-H5'/H5'' ma 2-BnOWac₃, natomiast dla pozostałych tlenowych pochodnych jest ona odmienna: H5'-H4'-H5' (**Rysunek 8**, str. 128). Ponadto sygnały H5'/H5'' rozsuwając się od siebie, ujawniają swoją strukturę rozszczepienia jako szerokie dublety dubletów, natomiast sygnał H4' przyjmuje postać nieregularnego multipletu spowodowane różnicami stałych sprzężeń H4'-H5' oraz H4'-H5''.

Wzrost polarności rozpuszczalnika powoduje przesunięcie sygnału H1' o 0.13~0.22 ppm w stronę słabszego pola oraz H2' w stronę przeciwną (0.12~0.19 ppm). W rezultacie sekwencja sygnałów H1' i H2' pozostaje taka sama jak w Wac₃ w przeciwieństwie do sekwencji w CDCl₃ (**Tabela 12b**, str. 132; **Rysunek 9**, str. 129). Pozostałe sygnały reszty cukrowej tj. H2'-H5'' przesuwają się w stronę wyższego pola. Wielkość tych zmian jest zróżnicowana: dla H2' i H3' 0.12-0.22 ppm (wyjątek H3' 2-BnOWac₃ 0.03), dla H4' i H5'/H5'' różnice nie przekraczają 0.1 ppm. Kierunek zmian δ sygnału H2' pod wpływem podstawnika C2 pozostaje taki sam niezależnie od polarności rozpuszczalnika jedynie dla pochodnych 2-okso. W 2-MeO- i 2-BnOWac₃ efekt anizotropowy podstawnika na H2' w DMSO-d₆ jest niezauważalny.

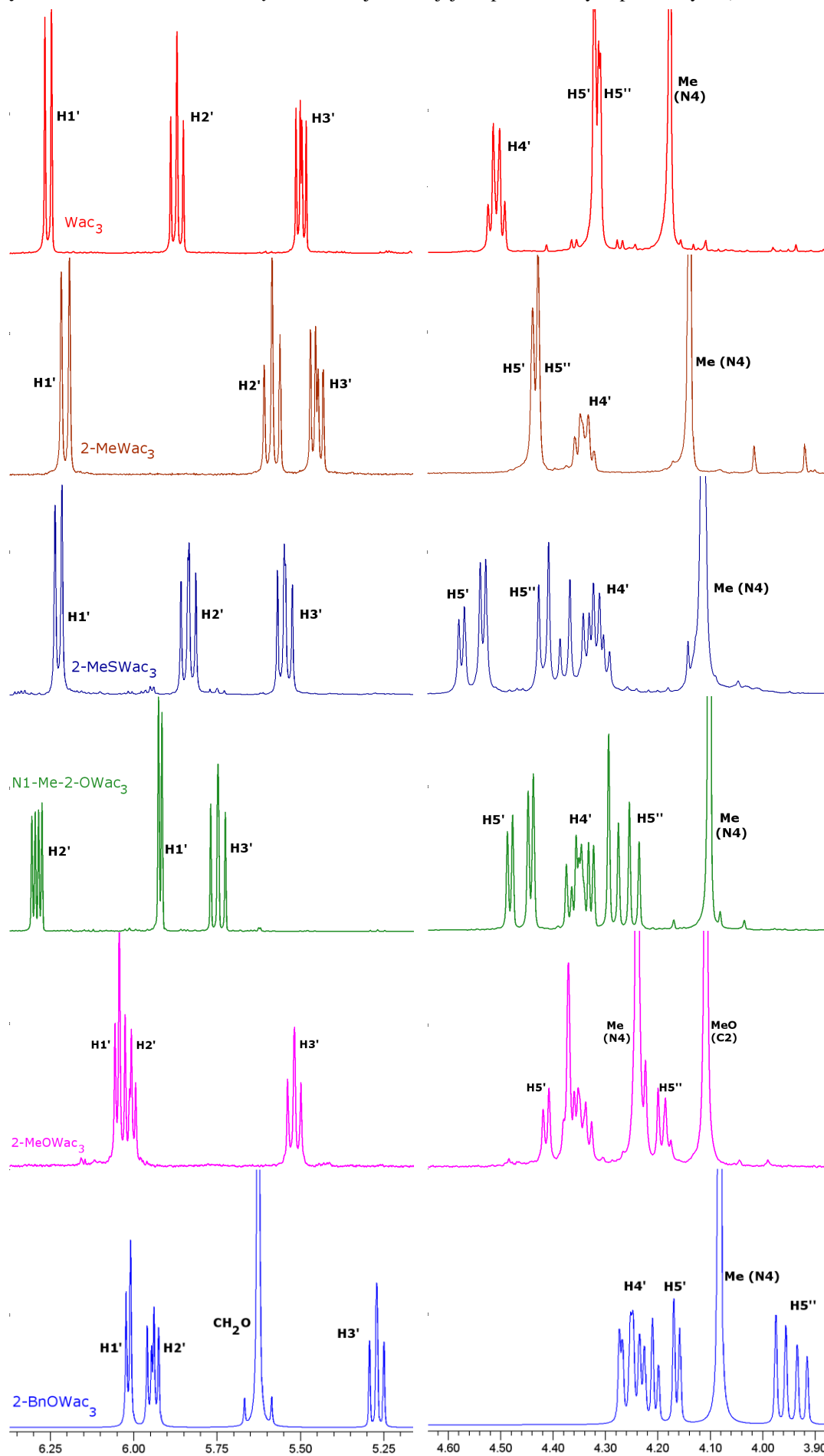
Brak grup acetylowych istotnie zmienia położenie sygnałów protonów części cukrowej w tlenowych pochodnych, aczkolwiek sekwencja sygnałów ¹H jest identyczna z obserwowaną dla wyożyny (**Tabela 13**, str. 133; **Rysunek 10**, str. 130). Podobnie jak w acetylowych analogach kierunek zmian przesunięć tych protonów pod wpływem podstawnika C2 pozostaje zachowany. Sygnał H1' pojawia się w silniejszym polu, różnica ta wynosi 0.34, 0.37, 0.22 i 0.21 ppm względem W, odpowiednio dla N1-Me-2-OW, 2-OW, 2-MeOW i 2-BnOW. Z kolei sygnał H2' ulega przesunięciu w stronę niższego pola, wielkość tych zmian wynosi odpowiednio: 0.55, 0.51, 0.17 i 0.18 ppm. Warto zauważyć że kierunek zmian przesunięć H1' i H2' pozostaje taki sam jak w blokowanych pochodnych i są one największe dla pochodnych okso. Wielkość zmian dla pozostałych sygnałów oscyluje w granicach 0.1-0.15 ppm, jedynie dla 2-BnOW różnice przesunięć są wyraźniejsze: 0.2-0.3 ppm w stronę wyższego pola.

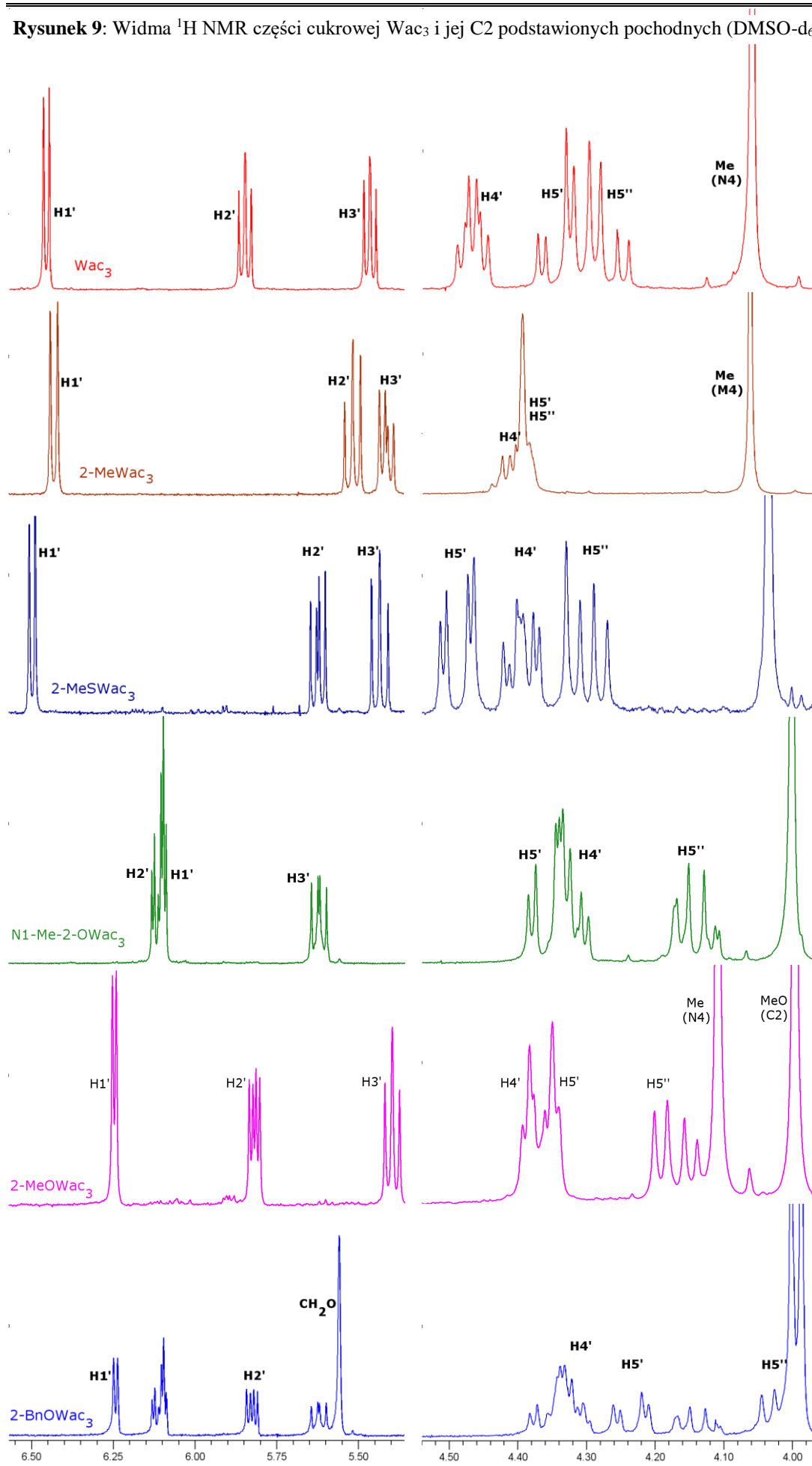
Sygnały protonów części zasadowej tj. H7 oraz grup metylowych (N4 i C6) zarówno pochodnych triacetylowych jak i wyożyny wykazywały nieznaczną zmianę swych położenia w granicach 0.1-0.2 ppm. Najmniejszą podatność na zmiany przesunięć wykazywał proton H7,

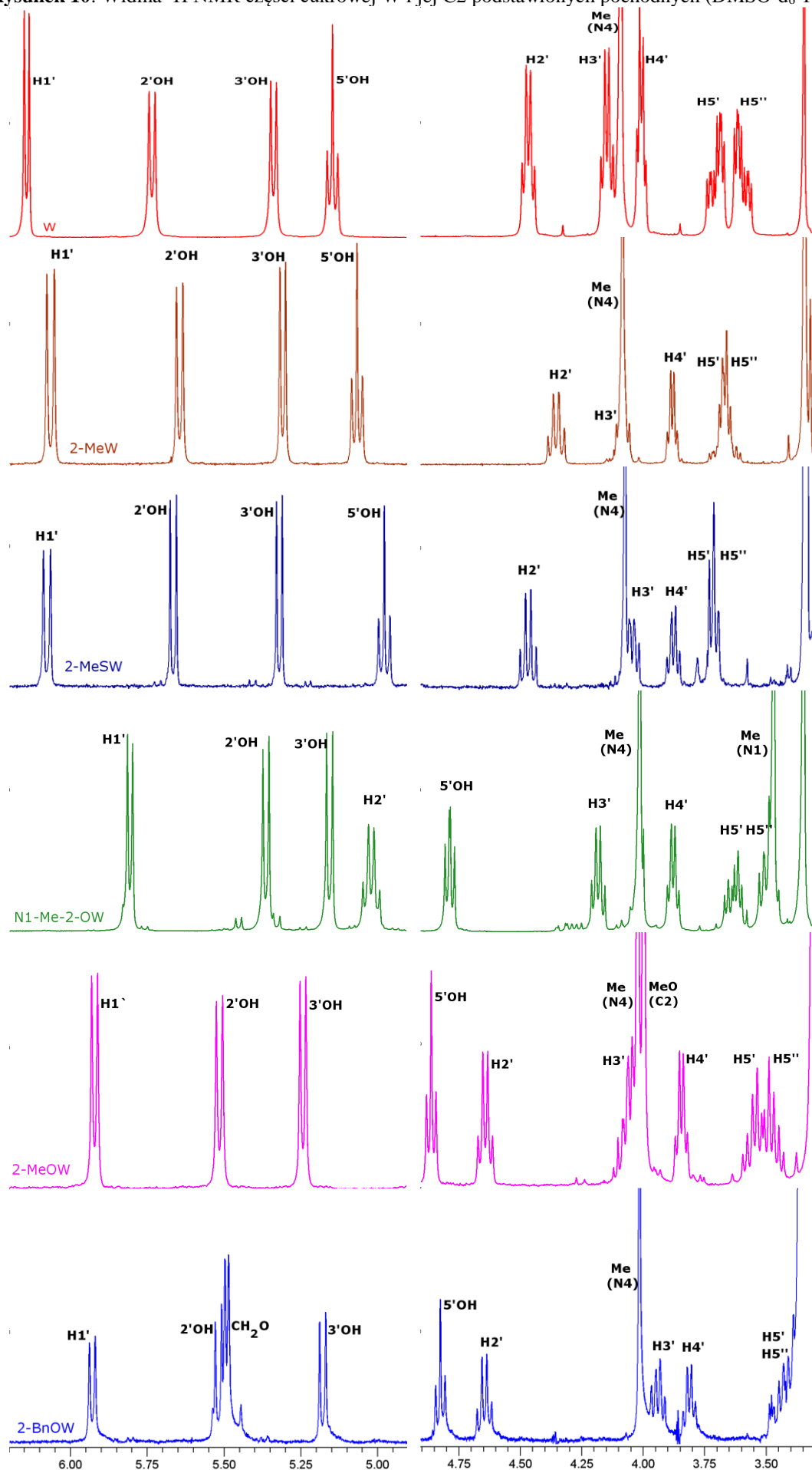
różnice przesunięć nie przekraczały 0.1 ppm. Związek 2-OWac₃ zawiera w swej strukturze wymienialny proton w pozycji N¹ a więc istnieje możliwość występowania dwóch tautomerów: keto i enolu. Wartość przesunięcia tego protonu w DMSO-d₆ δ=11.60 ppm wskazuje na jego umiejscowienie na atomie N1 natomiast w CDCl₃ sygnał ten pojawia się przy δ=8.52 ppm. To znaczne przesunięcie wskazywałoby na przesunięcie równowagi keto⇌enol w stronę enolu w CDCl₃, jakkolwiek należy wziąć pod uwagę wpływ polarności i efektów solwatacyjnych rozpuszczalnika na protony związane z heteroatomami. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem polarności położenie tych sygnałów ulega przesunięciu w stronę słabszego pola.⁴⁷⁸

Z przedstawionej wyżej analizy przesunięć chemicznych ¹H NMR C2 podstawionych pochodnych wyozyzny wynikają następujące wnioski:

- 1: Wpływ efektu anizotropowego podstawnika w C2 na protony części cukrowej jest bardzo zróżnicowany i zależy od jego charakteru. Największy efekt wywiera podstawnik okso, jest on bardzo zbliżony dla obu związków bowiem wartości przesunięć chemicznych są niemal identyczne. Charakter oddziaływania atomu tlenu na protony H2' i H3' można określić jako ujemnie indukcyjny przez przestrzeń, wymuszający ich odsłanianie. Natomiast w przypadku grupy metoksy i benzyloksy wpływ atomu tlenu jest mniejszy, co skłania do przypuszczenia iż jest to spowodowane jego oddaleniem się od protonów rybozy, wywołanym w szczególności przez grupę benzyłową. Zdecydowanie wyraźniejsze jest przesłaniające oddziaływanie prądu pierścienowego benzenu na sygnały H5'' i H3'. Oddziaływanie grupy MeS jest zauważalne tylko na protonach H4' i H5'/H5'', oraz dodatkowo na H2' w DMSO-d₆. Wpływ grupy metylowej jest widoczny najsilniej na H2', H4' i H5'/H5'', natomiast kierunek oddziaływania na H2' i H3' jest przeciwstawny do pochodnych tlenowych. Przesunięcie sygnału H1' w stronę silniejszego pola w pochodnych tlenowych wywołane jest polaryzacją wzdłuż wiązań N3-C1'-H1', jest on znacznie silniejszy dla pochodnych okso aniżeli metoksy i benzyloksy. Oddziaływanie efektów anizotropowych podstawników na protony części cukrowej zostają zachowane zarówno przy wzroście polarności rozpuszczalnika jak i odblokowaniu grup hydroksylowych.
- 2: Orientacja wokół wiązania glikozydowego pochodnych 2-metylotio, 2-metylo, 2-metoksy i 2-okso, wydaje się przyjmować zbliżone zakresy regionu *anti* czyli podstawniki zajmują pozycję ponad częścią cukrową. Natomiast pochodna 2-benzyloksy preferuje nieco odmienny zakres orientacji *anti*, najprawdopodobniej podstawnik C2 znajduje się poza płaszczyzną części cukrowej.

Rysunek 8: Widma ^1H NMR części cukrowej Wac_3 i jej C2 podstawionych pochodnych (CDCl_3 $T=25^\circ\text{C}$)

Rysunek 9: Widma ^1H NMR części cukrowej Wac_3 i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6 T=25°C)

Rysunek 10: Widma ^1H NMR części cukrowej W i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6 T=25°C)

3. Badania własne

Tabela 12a. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR 2',3',5'-triacetylowozyzyny i jej C2 podstawionych pochodnych (CDCl_3)

	H1'	H2'	H3'	H4'	H5'	H5''	H7	$^6\text{CH}_3$	$^4\text{CH}_3$	R2	CH_3 Acetyl
Wac₃ (CDCl_3)	6.23 d, 1H	5.85 t, 1H	5.50 dd, 1H	4.51 q, 1H	4.37- 4.32 dd, 1H	4.32- 4.27 dd, 1H	7.45 d, 1H	2.33 d, 3H	4.18 s, 3H	7.76 s, 1H	2.18, s, 3H 2.14, s, 3H 2.11, s, 3H
2-MeOWac₃ (CDCl_3)	6.05 d, 1H	6.01 dd, 1H	5.52 t, 1H	4.37- 4.33 m, 1H	4.42- 4.37 m, 1H	4.24- 4.18 m, 1H	7.43 d, 1H	2.32 s, 3H	4.24 s, 3H	4.10 s, 3H	2.13, s, 3H 2.12, s, 3H 2.07 s, 3H
2-BnOWac₃ (CDCl_3)	6.02 d, 1H	5.94 dd, 1H	5.27 t, 1H	4.28- 4.23 m, 1H	4.21- 4.16 dd, 1H	3.98- 3.92 dd, 1H	7.45 d, 1H	2.33 d, 3H	4.08 s, 3H	5.63 dd, 2H 7.43-7.37 m, 3H 7.58-7.54 m, 2H	2.10, s, 3H 2.08, s, 3H 1.92, s, 3H
2-OWac₃ (CDCl_3)	5.92 d, 1H	6.30 dd, 1H	5.71 t, 1H	4.38- 4.32 m, 1H	4.49- 4.44 dd, 1H	4.30- 4.24 dd, 1H	7.37 d, 1H	2.33 d, 3H	4.12 s, 3H	8.52 brs, 1H NH ¹	2.13, s, 3H 2.13, s, 3H 2.09, s, 3H
N1-Me-2-OWac₃ (CDCl_3)	5.91 d, 1H	6.28 dd, 1H	5.75 dd, 1H	4.37- 4.32 m, 1H	4.49- 4.44 dd, 1H	4.29- 4.23 dd, 1H	7.35 d, 1H	2.33 d, 3H	4.10 s, 3H	3.65 s, 3H	2.12, s, 3H 2.12, s, 3H 2.09, s, 3H
2-MeSWac₃ (CDCl_3)	6.21 d, 1H	5.84 dd, 1H	5.54 dd, 1H	4.33- 4.28 m, 1H	4.58- 4.53 dd, 1H	4.43- 4.37 dd, 1H	7.45 d, 1H	2.33 d, 3H	4.11 s, 3H	2.78 s, 3H	2.14, s, 3H 2.13, s, 3H 2.07, s, 3H
2-MeWac₃ (CDCl_3)	6.21 d, 1H	5.59 t, 1H	5.45 dd, 1H	4.34 q, 1H	4.44 s, 1H	4.43 s, 1H	7.43 d, 1H	2.33 d, 3H	4.14 s, 3H	2.67 s, 3H	2.16 s, 3H 2.15 s, 1H 2.08 s, 1H

3. Badania własne

Tabela 12b. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR 2',3',5'-triacetylowozyyny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6)

	H1'	H2'	H3'	H4'	H5'	H5''	H7	$^6\text{CH}_3$	$^4\text{CH}_3$	R2	CH_3 Acetyl
Wac₃ (DMSO- d_6)	6.46 d, 1H	5.85 t, 1H	5.47 t, 1H	4.49-4.45 m, 1H	4.37-4.32 dd, 1H	4.30- 4.24 dd, 1H	7.40 s, 1H	2.23 d, 3H	4.06 s, 3H	8.20 s, 1H	2.11 s, 3H 2.10 s, 3H 1.98 s, 3H
2-MeOWac₃ (DMSO- d_6)	6.25 d, 1H	5.82 dd, 1H	5.39 t, 1H	4.40-4.34 m, 2H		4.20- 4.14 dd, 1H	7.38 d, 1H	2.22 d, 1H	4.11 s, 3H	4.00 s, 3H	2.09 s, 3H 2.09 s, 3H 2.00 s, 3H
2-BnOWac₃ (DMSO- d_6)	6.24 d, 1H	5.82 dd, 1H	5.24 t, 1H	4.34-4.30 m, 1H	4.26-4.21 dd, 1H	4.05- 3.99 dd, 1H	7.38 d, 1H	2.22 d, 3H	3.99 s, 3H	5.56 s, 2H 7.44- 7.38 m, 3H 7.58- 7.55 m, 2H	2.08 s, 3H 2.07 s, 3H 1.87 s, 3H
2-OWac₃ (DMSO- d_6)	6.05 d, 1H	6.14 dd, 1H	5.58 dd, 1H	4.32-4.29 m, 1H	4.38-4.32 dd, 1H	4.17- 4.10 m, 1H	7.38 d, 1H	2.22 d, 3H	3.99 s, 3H	11.60 brs, 1H NH ¹	2.09 s, 3H 2.07 s, 3H 1.99 s, 3H
N1-Me-2-OWac₃ (DMSO- d_6)	6.09 d, 1H	6.11 dd, 1H	5.63 dd, 1H	4.34-4.30 m, 1H	4.38-4.34 dd, 1H	4.17- 4.11 m, 1H	7.38 d, 1H	2.23 d, 3H	4.00 s, 3H	3.50 s, 3H	2.09 s, 3H 2.07 s, 3H 1.99 s, 3H
2-MeSWac₃ (DMSO- d_6)	6.50 d, 1H	5.63 dd, 1H	5.44 t, 1H	4.42-4.37 m, 1H	4.52-4.47 dd, 1H	4.33- 4.27 dd, 1H	7.41 d, 1H	2.33 d, 3H	4.04 s, 3H	2.67 s, 3H	2.10 s, 3H 2.07 s, 3H 2.06 s, 3H
2-MeWac₃ (DMSO- d_6)	6.43 d, 1H	5.52 t, 1H	5.42 dd, 1H	4.44-4.40 q, 1H	4.39 s, 1H	4.38 s, 1H	7.38 d, 1H	2.23 d, 3H	4.06 s, 3H	2.57 s, 3H	2.12 s, 3H 2.07 s, 1H 2.06 s, 1H

Tabela 13. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR wyozyzny i jej C2 podstawionych pochodnych
(DMSO- d_6)

	H1'	H2'	H3'	H4'	H5'	H5''	H7	$^6\text{CH}_3$	$^4\text{CH}_3$	R2	OH (2',3',5')
W	6.14 d, 1H	4.47 q, 1H	4.15 q, 1H	4.01 q, 1H	3.74- 3.67 dd, 1H	3.63- 3.56 dd, 1H	7.39 d,1H	2.22 d, 3H	4.09 s, 3H	8.26 s, 1H	5.73, d, 3H 5.34, d, 3H 5.15 s, 3H
2-MeOW	5.92 d, 1H	4.64 q, 1H	4.08 m, 1H	3.86 q, 1H	3.61-3.45 m, 2H		7.37 d, 1H	2.22 d, 3H	4.03 s, 3H	4.01 s, 3H	5.51 d, 1H 5.24 d, 1H 4.86 t, 1H
2-BnOW	5.93 d, 1H	4.65 q, 1H	3.94 q, 1H	3.81 q, 1H	3.47-3.32 m, 2H		7.37 s, 1H	2.22 d, 3H	4.02 s, 3H	5.49 ^a d, 2H 7.53- 7.50 m, 2H 7.45- 7.39 m,3H	5.52 d, 1H 5.18 d, 1H 4.83 t, 1H
2-OW	5.77 d, 1H	4.98 q, 1H	4.16 q, 1H	3.84 q, 1H	3.65- 3.58 m, 1H	3.51- 3.40 m, 1H	7.37 d, 1H	2.22 d, 3H	4.01 s, 3H	11.45 brs, 1H	5.35 d, 1H 5.13 d, 1H 4.81 dd, 1H
N1-Me-2-OW	5.80 d, 1H	5.02 q, 1H	4.18 q, 1H	3.87 q, 1H	3.67- 3.58 m, 1H	3.53- 3.47 m, 1H	7.34 d, 1H	2.21 d, 3H	4.01 s, 3H	3.47 s, 3H	5.36 d, 1H 5.15 d, 1H 4.79 dd, 1H
2-MeSW	6.08 d, 1H	4.47 q, 1H	4.05 q, 1H	3.88 q, 1H	3.71 t, 1H	3.71 t, 1H	7.40 d, 1H	2.22 d, 3H	4.07 s, 3H	2.61 s, 3H	5.67 d, 1H 5.32 d, 1H 4.98 t, 1H
2-MeW	6.06 d,1H	4.35 q,1H	4.08 m, 1H	3.88 q,1H	3.73- 3.67 m,1H	3.67- 3.61 m,1H	7.37 d,1H	2.22 d,3H	4.08 s,3H	2.56 s,3H	5.64 d, 1H 5.31 d, 1H 5.07 t, 1H

^a przypisania sygnałów na podstawie widma zarejestrowanego w obecności D₂O.

Dynamiczny rozwój różnorodnych technik pomiarowych ^{13}C NMR w ostatnich latach oraz szerokie ich zastosowanie do badania nukleozydów, nukleotydów i kwasów nukleinowych umożliwił mi dokonanie istotnych ustaleń odnośnie właściwości C2 podstawionych pochodnych zarówno wyozyzny jak i jej N4-dezmetylo analogów. Pełna charakterystyka widmowa ^{13}C NMR pochodnych wyozyzny została wykonana przeze mnie w dużej mierze w oparciu o techniki 2D NMR wykorzystujące heteronuklearne sprzężenia przez jedno wiązanie C-H jak i sprzężenia przez więcej niż dwa wiązania.

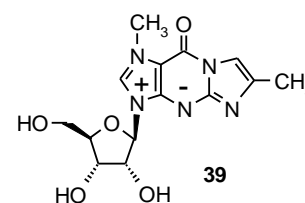
Sygnaly ^{13}C części cukrowej (C1'-C5') nie wykazują tak znaczących zmian jak odpowiadające im sygnaly ^1H (**Tabela 14**, str. 137). Sekwencja wymienionych sygnalów ^{13}C jest niezmienną we wszystkich pochodnych wyozyzny oraz identyczna z analogicznymi pochodnymi N4-dezmetylowyozyzny i guanozyzny. W porównaniu z W i Wac₃ sygnał C2' wykazuje tendencję do występowania w silniejszym polu pod wpływem przesłaniającego efektu anizotropowego podstawnika w pozycji C2 zasady. Wielkość $\Delta\delta^{C2'}$ jest zróżnicowana i wynosi 4.8~4.9 ppm dla 2-okso pochodnych wyozyzny, 3.5 ppm dla 2-MeOW i 2-BnOW, 3.2 i 2.6 ppm odpowiednio dla 2-MeSW i 2-MeW. Wprowadzenie grupy acetylowej w O2' zmniejsza wartość $\Delta\delta^{C2'}$ do 0.3~0.8 ppm dla tlenowych pochodnych Wac₃ oraz 1.1~1.5 ppm dla 2-MeS- i 2-MeWac₃. Spadek wielkości $\Delta\delta^{C2'}$ jest spowodowany przeciwnym do podstawnika C2 odsłaniającym oddziaływaniem grupy acetylowej na $\delta^{C2'}$. Przesunięcie chemiczne C3' jest wyraźnie uzależnione od charakteru podstawnika C2. W tlenowych pochodnych wyozyzny $\delta^{C3'}$ ulega nieznacznemu przesunięciu w stronę słabszego pola, $\Delta\delta$ ta wynosi 0.1~0.2 ppm dla 2-MeOW i 2-BnOW, 0.4~0.5 ppm dla 2-OW i N1-Me-2-OW. Natomiast w 2-MeSW i 2-MeW kierunek zmian jest przeciwny, $\Delta\delta$ wynosi odpowiednio 0.4 i 1.0 ppm. Należy podkreślić, że wielkość $\Delta\delta^{C3'}$ w odpowiednich C2 podstawionych pochodnych N4-dezmetylowyozyzny nie przekracza 0.1 ppm z wyjątkiem 2-MeOV gdzie $\Delta\delta^{C3'}=0.2$ ppm. Powyższe porównanie skłania mnie do przypuszczenia, że zróżnicowanie wielkości $\Delta\delta^{C3'}$ w pochodnych wyozyzny jest rezultatem istnienia odmiennego otoczenia chemicznego wokół C3' w porównaniu z pochodnymi N4-dezmetylowyozyzny. Zmiany przesunięć C3' po wprowadzeniu grupy acetylowej w O3' przyjmują wartości 0.1~0.9 ppm.

Analizując $\Delta\delta$ sygnalów C2' i C3' ($\Delta\delta^{C2'-C3'}$) pochodnych wyozyzny zauważyłem znaczące różnice w zależności od rodzaju grupy w C2. W 2-OW i N1-Me-2-OW sygnaly C2' i C3' nakładają się natomiast obecność grup acetylowych zwiększa $\Delta\delta$ obu sygnalów do 1.8~2.0 ppm. W pozostałych pochodnych wyozyzny oba sygnaly są wyraźnie oddzielone od siebie, $\Delta\delta$ wynosi 1.6 ppm dla 2-MeOW i 2-BnOW oraz 2.4 i 3.7 ppm dla 2-MeSW i 2-MeW. Natomiast $\Delta\delta^{C2'-C3'}$ triacetylowych odpowiedników wyżej wymienionych związków wzrasta

do 2.8-3.7 ppm. Kierunek zmian położenia sygnałów C2' i C3' w analogicznej serii C2 podstawionych pochodnych wyozyiny i N4-dezmetylowyozyiny jest taki sam, co mogłoby wskazywać na istnienie podobnych oddziaływań przesłaniających w obrębie fragmentu C2'-C3' cząsteczki. Z drugiej strony, wartość $\Delta\delta$ sygnałów C2' i C3' jest większa i bardziej zróżnicowana w serii wyozyiny aniżeli N4-dezmetylo oraz jest wyraźnie uzależniona od rodzaju podstawnika. Obserwowany wzrost $\Delta\delta$ sygnałów C2' i C3' przy przejściu z układu N4-dezmetylowyozyiny do wyozyiny wyraźnie wskazuje na zmianę otoczenia chemicznego wokół tych atomów. Wydaje się, że kryterium $\Delta\delta$ sygnałów C2' i C3' stosowane przy określaniu ogólnej preferencji orientacji *syn/anti* w 8-podstawionych pochodnych nukleozydów purynowych^{470,471} nie ma zastosowania do układu wyozyiny. Położenie sygnałów C1' i C4' pozostawało bez zmian w nieblokowanych C2 podstawionych pochodnych w porównaniu z wyozyną. Jedynie sygnał C5' ulegał nieznacznemu przesunięciu o ok 1 ppm w stronę niższego pola w pochodnych tlenowych i metylotiolowej. Natomiast w obecności grup acetylowych sygnał C1' pojawiał się w słabszym polu względem W_{ac_3} ($\Delta\delta=0.9\sim 2$ ppm) jedynie w pochodnych zawierających w pozycji C2 atom tlenu lub siarki. Znaczącą różnicę przesunięć w stronę silniejszego pola wykazuje sygnał C4' ($\Delta\delta=2.3\sim 2.7$ ppm) w 2-Me- i 2-MeOW $_{ac_3}$. Wprowadzenie grup acetylowych znacząco wpłynęło na położenie sygnałów C1' i C4' przesuując ich δ w stronę silniejszego pola odpowiednio o wartości 1.8~2.6 ppm i 5.0~6.7 ppm. Powyższa tendencja jest identyczna z zaobserwowaną dla serii pochodnych N4-dezmetylowyozyiny. Położenie sygnałów przypisanych grupom acetylowym zajmowało charakterystyczne dla tej grupy zakresy wartości przesunięć, różnice położenia sygnałów względem W_{ac_3} nie przekraczały 0.5 ppm.

W widmach ^{13}C części zasadowej C2 podstawionych pochodnych wyozyiny największe zmiany dotyczą sygnałów N1-C2-N3-C3a-C9a czyli tego samego fragmentu imidazolowego jak w przypadku pochodnych układu N4-dezmetylowyozyiny (**Tabela 15**, str. 138). Różnice przesunięć chemicznych ^{13}C części zasadowej w serii acetylowanych i odblokowanych pochodnych wyozyiny względem związków macierzystych (W_{ac_3} , W) nie przekraczają 1.5 ppm. Wobec tego w dalszej dyskusji analizowane zmiany dotyczyć będą każdej pary pochodnych. Położenie sygnału C2 po wprowadzeniu podstawnika ulegało największym zmianom, jego wielkość uzależniona jest od charakteru grupy. Przypisanie δ dla C2 uzyskałem na drodze widm $^1H-^{13}C$ 2D ghmbc, na których obserwowałem sprzężenie C2 z protonami grupy metylowej lub metylenowej (pochodne N1-metylo-2-okso, metylotio, metoksy i benzyloksy) oraz z protonem H1' reszty cukrowej we wszystkich wymienionych związkach. Podstawienie wodoru grupą alkiloksy lub atomem tlenu powodowało przesunięcie w stronę niższego pola o 14.5~16.7 ppm. Natomiast w obecności grupy metylowej lub

metylotiolowej różnica ta była mniejsza i wynosiła 10~11.7 ppm. Podobną $\Delta\delta$ w stronę silniejszego pola wykazywał sygnał C9a. Wynosiła ona w przypadku obu pochodnych okso 17.4~18.5 ppm, natomiast dla pochodnej benzyloksy i metoksy - 6.4~7.8 ppm. W związkach podstawionych grupą metyloliolową i metylową sygnał C9a był znacznie słabiej przesunięty w stronę silniejszego pola - odpowiednio o 0.5 ppm i 2~3 ppm. Przypisanie przesunięć dla C9a na podstawie widm ^1H - ^{13}C 2D ghmbc nie było we wszystkich związkach proste. Obecność sygnałów korelacyjnych pomiędzy C9a a H2 lub grupą metylową na N1 obserwowałem jedynie odpowiednio w Wac₃ i N1-Me-2-OWac₃ oraz ich odblokowanych analogach. W pozostałych związkach przypisań dokonałem na drodze eliminacji pozostałych sygnałów. Kierunek zmian δ sygnału C3a nie jest we wszystkich pochodnych wyożyny jednakowy. Dla pochodnych tlenowych sygnał ten ulegał przesunięciu w stronę silniejszego pola, w przypadku analogów okso $\Delta\delta$ wynosił 3.3~4.8 ppm, natomiast w obecności grup metoksy i benzyloksy różnica ta malała do 0.4~1.3 ppm. Z kolei w metylo- i metylopochothanej kierunek zmian jest przeciwny, czyli w stronę słabszego pola, $\Delta\delta$ wynosi odpowiednio o 2.5~2.8 ppm i 1.6~1.7 ppm. We wszystkich pochodnych wyożyny widoczny jest sygnał korelacyjny pomiędzy C3a i grupą metylową N⁴ oraz H1', jedynie w W i Wac₃ zamiast sprzężenia C3a-H1' wystąpiło sprzężenie C3a-H2. Warto zauważyć, że bardzo zbliżony z tlenowymi analogami wpływ na położenie sygnałów C9a i C3a ma podstawienie N4-dezmetylowożyny grupą metylową w pozycji N¹ (**39**), $\Delta\delta$ wynosi odpowiednio 12.7 oraz 4.0 ppm w stronę silniejszego pola.⁴⁷⁷ Związek **39** posiada strukturę mezojonową, z



deficytem elektronów na azocie N1, natomiast w przypadku tlenowych pochodnych jest on zlokalizowany na węglu C2. Zauważalne zmiany δ wykazywał atom C9, który przyjmował nieco niższe wartości w porównaniu z macierzystym związkiem. Różnica przesunięć wynosiła 4.0~4.9 ppm dla 2-okso pochodnych oraz 1.1, 0.6, 0.5 i 0.2 ppm dla metoksy-, benzyloksy-, metylo- i metyloliolowej pochodnej. Zmiany w przesunięciach pozostałych sygnałów ^{13}C tj. C4a, C6, C7, N⁴C, ^6C były nieznaczne, najmniejsze różnice obserwowałem dla ^6C (0.3 ppm), dla pozostałych wymienionych atomów wynosiły one 1.0~2.0 ppm. Wartość δ_{C} podstawników w pozycji C2 pozostawały bez istotnych zmian przy przejściu z układu N4-dezmetylowożyny do wyożyny, $\Delta\delta$ mieści się w zakresie 0.3~2.1 ppm w kierunku słabszego pola.

Uzyskane przeze mnie wartości przesunięć ^{15}N dla W i Wac₃ są zgodne z danymi literaturowymi, nieznaczne odstępstwa wynikają z zastosowania innej techniki rejestracji (**Tabela 16**, str. 138).^{479,480} Przeprowadziłem również pomiary dla wybranych związków:

3. Badania własne

2-OW, 2-OWac₃, N1-Me-2-OW, N1-Me-2-OWac₃, 2-BnOWac₃ i 2-MeSWac₃. Największą różnicę przesunięć w dół pola stwierdziłem w 2-oksopochodnych na N1 ($\Delta\delta=147$ ppm) oraz N3 ($\Delta\delta=23$ ppm), co świadczy o wyraźnej zmianie natury pierścienia imidazolowego. Podobny efekt zaobserwowano dla **39**.⁴⁷⁹ Znacznie mniejsze różnice zaobserwowałem dla pozostałych związków. Przesunięcia sygnałów N4, N5 i N8 wykazywały niewielkie różnice w porównaniu z W i Wac₃.

Tabela 14. Przesunięcia chemiczne ¹³C NMR części cukrowej wyozyzny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO-d₆)

	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C=O (Acetyl)	CH ₃ (Acetyl)
W	88.68	74.73	69.45	85.31	60.31	-----	-----
2-MeOW	88.73	71.26	69.68	85.43	61.28	-----	-----
2-BnOW	88.84	71.16	69.55	85.23	61.30	-----	-----
2-OW	88.76	69.84	69.84	85.05	61.45	-----	-----
N1-Me-2-OW	88.95	69.91	69.91	85.15	61.45	-----	-----
2-MeSW	89.01	71.50	69.07	85.96	61.27	-----	-----
2-MeW	88.30	72.15	68.47	85.41	60.58	-----	-----
Wac₃	85.94	72.71	70.63	80.94	62.69	170.05 169.53 169.10	20.67 20.55 20.39
2-MeOWac₃	86.82	71.95	68.89	78.27	61.97	169.98 169.57 169.40	20.35 20.35 20.24
2-BnOWac₃	87.41	72.40	69.64	79.10	62.48	170.29 169.40 169.15	20.45 20.40 20.37
2-OWac₃	87.79	72.25	70.41	80.07	62.87	170.61 169.79 169.25	20.70 20.56 20.45
N1-Me-2-OWac₃	87.99	72.45	70.49	79.99	62.91	170.54 169.74 169.24	20.71 20.57 20.45
2-MeSWac₃	87.50	71.65	68.83	79.83	62.38	170.34 169.19 169.01	20.79 20.40 20.23
2-MeWac₃	85.73	71.23	67.54	78.67	62.09	169.98 169.43 169.17	20.47 20.26 20.06

Tabela 15. Przesunięcia chemiczne ^{13}C NMR części zasadowej wyożyny i jej C2 podstawionych pochodnych (DMSO- d_6)

	C2	C3a	C4a	C6	C7	C9	C9a	2-X	6-CH ₃	N4-CH ₃
W	135.39	139.82	142.31	137.23	105.66	151.43	115.59	----	14.04	33.78
2-MeOW	151.44	139.47	142.15	137.04	105.72	150.84	109.23	57.18	14.06	35.20
2-BnOW	150.60	139.41	142.17	137.07	105.76	150.83	109.20	71.57 128.29 128.46 128.51 135.31	14.06	35.21
2-OW	150.63	136.48	141.47	137.06	105.64	146.57	97.75	----	13.96	35.10
N1-Me-2-OW	149.90	136.00	141.14	137.21	105.59	146.99	98.21	28.52	13.92	35.18
2-MeSW	144.96	142.32	142.07	137.39	105.93	150.50	115.20	15.40	14.08	35.89
2-MeW	145.15	141.38	142.63	137.21	105.61	151.01	113.60	16.68	14.02	35.84
Wac₃	133.34	139.57	142.39	138.16	106.74	151.92	116.92	----	14.31	33.89
2-MeOWac₃	150.52	138.87	141.97	137.11	105.79	150.77	109.16	57.62	14.05	34.55
2-BnOWac₃	149.98	138.24	142.19	137.69	106.69	151.76	110.51	73.41 128.87 129.22 129.56 134.13	14.27	34.79
2-OWac₃	150.11	135.42	141.26	138.24	106.62	147.39	98.46	----	14.20	34.87
N1-Me-2-OWac₃	149.93	134.73	141.21	138.15	106.38	147.88	99.47	29.12	14.25	34.97
2-MeSWac₃	145.08	142.39	141.34	138.03	106.96	151.29	116.42	16.04	14.29	35.79
2-MeWac₃	145.08	141.28	142.62	137.37	105.76	151.03	113.76	16.29	14.07	35.72

Tabela 16. Przesunięcia chemiczne ^{15}N NMR wyożyny i jej wybranych pochodnych

	N1	N3	N4	N5	N8
W	-129,24	-210,18	-284,74	-154,09	-188,35
N1-Me-2-OW	-273,13	-240,97	-281,60	-151,11	-188,80
2-OW	-273,00	-239,65	-282,40	-152,16	-189,50
Wac₃	-125,48	-216,5	-286,78	-155,28	-187,45
2-MeSWac₃	-132,48	-223,65	-288,32	-155,15	-188,23
2-BnOWac₃	Nie zarejestrowano	-238,60	-287,97	-152,66	-188,02
N1-Me-2-OWac₃	-272,80	-242,11	-285,50	-154,15	-188,74
2-OWac₃	-272,00	-240,15	-284,00	-154,30	-189,65