

Synthese von Oligonucleotiden über Phosphorsäure-triester ^[1]

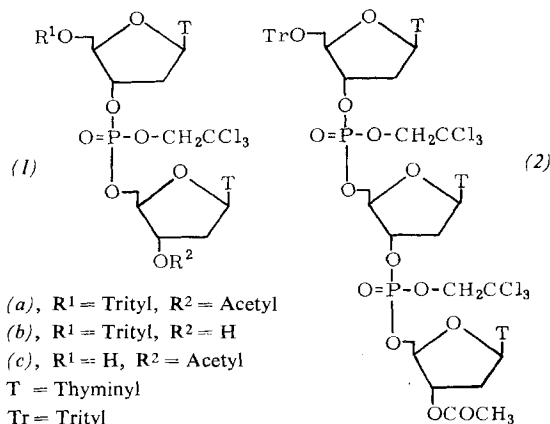
Von F. Eckstein und I. Rizk ^[*]

Bei der Synthese besonders höherer Oligonucleotide entstehen Nebenprodukte, die auf eine Aktivierung der Internucleotidbindung durch das Kondensationsmittel zurückzuführen sind ^[2]. Eine Veresterung der freien OH-Gruppen an den Phosphatbrücken sollte diese Nebenreaktionen verhindern und darüber hinaus die Trennung der Syntheseprodukte an Kieselgel ermöglichen.

Wir haben daher das Pyridiniumsalz des 5'-Trityl-3'-thymidylsäure- β,β,β -trichloräthylesters (NH_4^+ -Salz: $\text{Fp} = 226^\circ\text{C}$) ^[3,4] (0,5 mmol) mit 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonyl-chlorid (1 mmol) in Pyridin (3 ml) aktiviert (12 Std., Raumtemperatur) und anschließend mit 3'-O-Acetylthymidin (0,5 mmol) kondensiert (weitere 12 Std., Raumtemperatur) ^[5]. Durch präparative Dünnschichtchromatographie (Merck-Kieselgel PF 254, Chloroform/Methanol = 93:7 v/v) des Reaktionsgemisches konnten wir den Triester (1a) ^[4] isolieren (55 % Ausbeute).

Reduktion von (1a) mit Zn-Staub in 80-proz. Essigsäure (20 min, Raumtemperatur) und anschließende Abspaltung der Trityl- und Acetylgruppe (mit 80-proz. Essigsäure bei 100°C , 10 min, bzw. mit konz. Ammoniak bei 20°C , 2 Std.) lieferte TpT ^[6] (90 % Ausbeute).

Hydrolyse von (1a) mit konz. Ammoniak (2 Std.) ergab – neben Phosphorsäure-diestern – Tritylthymidin, Thymidin und (1b) im Mengen-Verhältnis 25:20:55. Saure Hydrolyse (80-proz. Essigsäure, 100°C , 10 min) lieferte ausschließlich (1c).



Ersetzt man in der Kondensationsreaktion das Acetylthymidin durch (1c), so erhält man den Oligonucleotidester (2) ^[4] mit 55 % Ausbeute (amorph, $\text{Fp} = 143^\circ\text{C}$). Abspaltung der Trichloräthylgruppe durch Reduktion mit Zn-Staub in 80-proz. Essigsäure und Entfernung der Trityl- und Acetylgruppe lieferte TpTpT ^[6] (85 % Ausbeute).

R_f -Werte auf Merck DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄, Chloroform/Methanol = 93:7 v/v.

5'-Tritylthymidin	0,63	(1a)	0,86
3'-Acetylthymidin	0,52	(1b)	0,38
(2)	0,57	(1c)	0,42

Eingegangen am 19. Mai 1967 [Z 519]

^[*] Dr. F. Eckstein und Dipl.-Chem. I. Rizk
 Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin,
 Abteilung Chemie
 34 Göttingen, Hermann-Rein-Straße 3

[1] XI. Mitteilung über Synthesen von Oligo- und Polynucleotiden. – X. Mitteilung: F. Cramer, W. Frölke u. H. Matzura, Angew. Chem. 79, 580 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 562 (1967).

[2] E. Ohtsuka, M. W. Moon u. H. G. Khorana, J. Amer. chem. Soc. 87, 2954 (1965).

[3] F. Eckstein u. K. H. Scheit, Angew. Chem. 79, 317 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 362 (1967).

[4] Die Verbindung gibt eine korrekte Elementaranalyse.

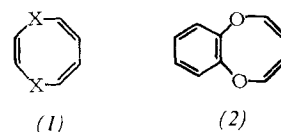
[5] In Anlehnung an R. L. Letsinger u. V. Mahadevan, J. Amer. chem. Soc. 88, 5319 (1966).

[6] Abbau mit Schlangengift-Phosphodiesterase ergibt das geforderte Verhältnis Thymidin:Thymidin-5'-phosphorsäure.

1,6-Benzodioxocin, Synthesen und Eigenschaften

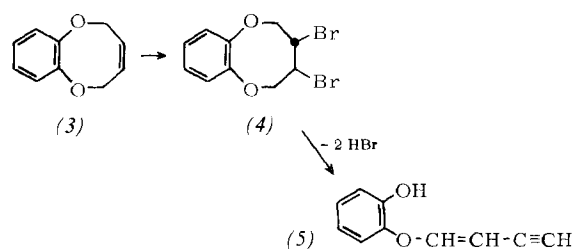
Von W. Schroth und B. Werner ^[*]

Heterocyclen des Typs (1), $\text{X} = \text{O}$, N-R , S , („1,4-Diheterocine“) lassen sich formal als 10- π -Elektronensysteme betrachten. Wir haben das in diese Reihe gehörende 1,6-Benzodioxocin (2) dargestellt und untersucht ^[1].



Als Ausgangsverbindung diente das durch Umsetzung von Brenzcatechin mit *cis*-1,4-Dichlor-2-buten (neben 2-Vinyl-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin und 2,3;10,11-Dibenzo-1,4,9,12-tetraoxacyclohexadeca-all-*cis*-2,6,10,14-tetraen) entstehende 2,5-Dihydro-1,6-benzodioxocin (3) ^[2].

Die zweifache Dehydrobromierung des aus (3) erhältlichen *trans*-Dibromadduktes (4) ^[2,3] mit *K-tert.-Butylat* führt nicht zu (2), sondern zum 1-(*o*-Hydroxyphenoxy)but-1-en-3-in (5) ($\text{Kp} = 124^\circ\text{C}/10\text{ Torr}$). Die Eliminierung verläuft über das 3-Brom-2,5-dihydro-1,6-benzodioxocin ($\text{Fp} = 30^\circ\text{C}$), das aus (4) mit 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en ^[4] erhalten wird.



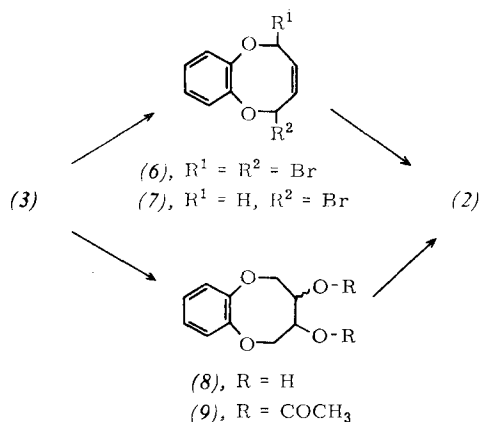
Auf folgenden Wegen konnte (2) gewonnen werden:

a) Durch Bromierung von (3) mit zwei mol *N*-Bromsuccinimid zum nicht isolierten 2,5-Dibrom-2,5-dihydro-1,6-benzodioxocin (6) und dessen Debromierung mit Zinkstaub in Dimethylformamid [Ausbeute ca. 10 % bezogen auf (3)].

b) Durch Monobromierung von (3) mit *N*-Bromsuccinimid zum 2-Brom-2,5-dihydro-1,6-benzodioxocin (7) und dessen Behandlung mit Triäthylamin.

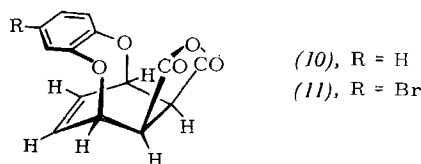
c) Durch Oxidation von (3) zu *cis*- und *trans*-3,4-Dihydroxy-2,3,4,5-tetrahydro-1,6-benzodioxocin (8) ^[1] (*cis*-Verbindung: $\text{Fp} = 112^\circ\text{C}$, *trans*-Verbindung: $\text{Fp} = 111^\circ\text{C}$), Acetylierung zu den Diacetoxy-Derivaten (9) (*cis*-Verbindung: $\text{Fp} = 62^\circ\text{C}$, *trans*-Verbindung: $\text{Fp} = 88^\circ\text{C}$) und Pyrolyse (450°C). Ausbeute, bezogen auf (3): maximal 3 %.

Die Verbindung (2) ist ein farbloses, bei Kühlung kristallisierendes Öl ($\text{Kp} = 109^\circ\text{C}/13\text{ Torr}$; $\text{Fp} = 5^\circ\text{C}$). Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ^[5] von (2) liegen die Signale des heterocyclischen Ringes im „olefinischen Bereich“ ($\tau = 3,05$ und $4,65$, jeweils Aufspaltung zu Doppeldublett mit $J = 5$ und 2 Hz), das Signal der Protonen am Benzolring liegt bei $\tau = 2,40$. Auf mangelnde Koplanarität, d.h. behinderte Konjugation des

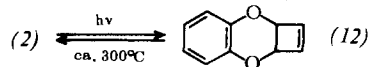


Heteroringes mit dem Benzolkern, weist auch die gegenüber (3) ($\lambda_{\max} = 282, 275 \text{ nm}$; $\log \epsilon_{\max} = 3,30, 3,33$ in Cyclohexan) kürzerwellige UV-Absorption von (2) ($\lambda_{\max} = 277, 272 \text{ nm}$; $\log \epsilon_{\max} = 3,47, 3,49$ in Cyclohexan). Demnach dürfte eine aromatische π -Elektronendelokalisation im heterocyclischen Ring von (2), trotz Erfüllung der $4n + 2$ -Regel ($n = 2$), nur in untergeordnetem Maße, wenn überhaupt, bestehen^[6].

Bei 190°C (Badtemperatur) reagiert (2) mit Maleinsäureanhydrid zum Diels-Alder-Addukt (10), $\text{Fp} = 220^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$: $\tau = 3,20$ (aromatische Protonen), $3,82$ (olefinische Protonen), $4,86$ (CH-O-), $6,07$ (CH-CO-O-), Flächenverhältnis = 2:1:1:1. Einen chemischen Konstitutionsbeweis bietet die Hydrolyse (HBr/Eisessig) zu Phthalsäure. Der formulierten *exo*-Konfiguration von (10) entspricht, daß unterbromige Säure keine Bromlactonsäure bildet, sondern den Benzolkern bromiert. Nach Dehydratisierung im Vakuum bei 150°C erhält man (11), $\text{Fp} = 263^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$: $\tau = 3,10, 3,19$ (aromatische Protonen), $3,56$ (olefinische Protonen), $4,83$ (CH-O-), $5,72$ (CH-CO-O-), Flächenverhältnis = 3:2:2:2.



Bei UV-Bestrahlung (50 Std., 20°C) erleidet (2) disrotatorische Valenzisomerisierung zum 3,4-Benzo-2,5-dioxabicyclo-[4.2.0]octa-3,7-dien (12), $\text{Fp} = 63^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$: $\tau = 3,21$ (aromatische Protonen), $3,80$ (olefinische Protonen), $4,81$ (CH-O-), Flächenverhältnis = 2:1:1. Die thermische Rückisomerisierung von (12) zu (2) benötigt Temperaturen um 300°C , bei denen bereits Zersetzungen eintreten; in geringerem Ausmaß wird (12) dabei in 1,4-Benzodioxin^[7] und Acetylen gespalten.



Eingegangen am 29. Mai 1967 [Z 527]

[*] Doz. Dr. W. Schroth, Dipl.-Chem. B. Werner
 Institut für Organische Chemie der Universität
 X 402 Halle, Weinbergweg

[1] Vgl. W. Schroth, K. Kränke u. J. Reinhardt, *Angew. Chem.* 75, 303 (1963); *Z. Chem.* 3, 119 (1963).

[2] Vgl. W. Schroth, J. Reinhardt, K. Kränke u. B. Streckenbach, *Z. Chem.* 3, 228 (1963).

[3] Die *trans*-Anordnung der Bromatome beweist die Bildung von *threo*-2,3-Dibrombutan-1,4-diol ($\text{Fp} = 87^\circ\text{C}$) bei Ozonolyse des Benzolkerns und milder Säurehydrolyse.

[4] H. Oediger, H. J. Kabbe, Fr. Möller u. K. Eiter, *Chem. Ber.* 99, 2012 (1966); Herrn Dr. Eiter danken wir für eine Probe.

[5] Für Aufnahme und Diskussion danken wir den Herren Dr. G. Engelhardt, Berlin-Adlershof, und Dr. A. Zschunke, Leipzig.

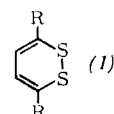
[6] Quantenchemische Berechnungen: A. T. Balaban u. Z. Simon, *Rev. roum. Chim. (Bucarest)* 10, 1059 (1965), und zwar S. 1071.

[7] Vgl. W. Schroth, B. Streckenbach u. B. Werner, *Z. Chem.* 7, 152 (1967); A. R. Katritzky, M. J. Sewell, R. D. Topsom, A. M. Monroe u. G. W. H. Potter, *Tetrahedron* 22, 931 (1966).

1,2-Dithiine, ein neuer Heterocyclen-Typ^[1]

Von W. Schroth, F. Billig und G. Reinhold^[*]

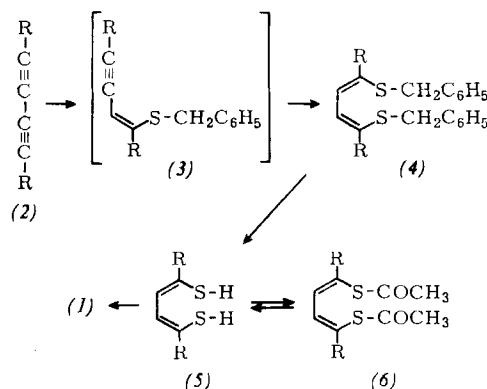
Die bislang unbekannten 1,2-Dithiine (1) besitzen Disulfid-Struktur in cyclischer Konjugation und haben damit formal ein $8-\pi$ -Elektronensystem. Wegen der enormen Labilität des kürzlich synthetisierten^[2] Grundkörpers (1a) (rotes Öl, das sehr leicht polymerisiert und Schwefel unter Bildung von Thiophen abspaltet) war die Kenntnis der 3,6-disubstituierten Derivate erforderlich.



	R	Fp ($^\circ\text{C}$) [Kp ($^\circ\text{C}/\text{Torr}$)]	λ_{\max} [a] (nm)	$\log \epsilon$
(1a)	H	[45/4]	451	2,88
(1b)	C_6H_5	143	468	3,12
(1c)	<i>p</i> - CH_3 - C_6H_4	162	470	3,46
(1d)	<i>p</i> - CH_3O - C_6H_4	179	467	4,43
(1e)	2-Thienyl	123	481	3,76

[a] Im sichtbaren Spektralbereich; aufgenommen in Cyclohexan.

Die Synthese gelang durch nucleophile Addition von Benzylmercaptan an Butadiine (2) zu *cis,cis*-1,4-Bis(benzylmercapto)butadienen (4), reduktive Entbenzylierung mit Natrium in flüssigem NH_3 (-70°C) zu *cis,cis*-1,4-Dimercaptobutadienen (5) und Oxidation mit Luft in alkalischer Lösung. In einigen Fällen, $R = p\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$, $p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$, CH_3 , wurden die Monoadditionsprodukte (3) gefaßt.



	R	(3) Fp ($^\circ\text{C}$)	(4) Fp ($^\circ\text{C}$)	(5), Fp ($^\circ\text{C}$) [Kp ($^\circ\text{C}/\text{Torr}$)]	(6) Fp ($^\circ\text{C}$)
(a)	H	—	129	[38/0,3]	148
(b)	C_6H_5	—	118	99	159
(c)	<i>p</i> - CH_3 - C_6H_4	91	136	138	193
(d)	<i>p</i> - CH_3O - C_6H_4	73	157	148	167
(e)	2-Thienyl	—	116	—	156
(f)	CH_3	55	98	—	—

Die relativ instabilen Dithiole (5) werden als Diacetylverbindungen (6) gelagert, aus denen sie sich schon mit verdünnten Laugen regenerieren lassen.