

Synthese von Oligonucleotiden über Phosphorsäure-triester [1]

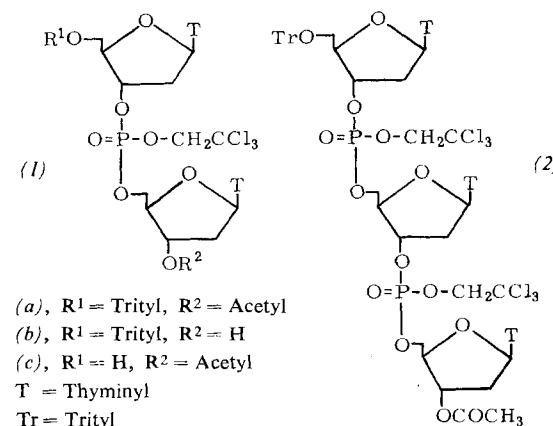
Von F. Eckstein und I. Rizk^[*]

Bei der Synthese besonders höherer Oligonucleotide entstehen Nebenprodukte, die auf eine Aktivierung der Inter-nucleotidbindung 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) 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 $\text{TpTpT}^{[6]}$ (90 % Ausbeute).

Hydrolyse von (1a) mit konz. Ammoniak (2 Std.) ergab – neben Phosphorsäure-diester – 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 $\text{TpTpT}^{[6]}$ (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. Fröcke u. H. Matzura, Angew. Chem. 79, 520 (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.

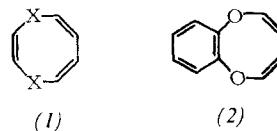
[5] In Anlehnung an R. L. Letsinger u. V. Mahadevan, J. Amer. chem. Soc. 88, 5319 (1966).

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

1,6-Benzodioxocin, Synthesen und Eigenschaften

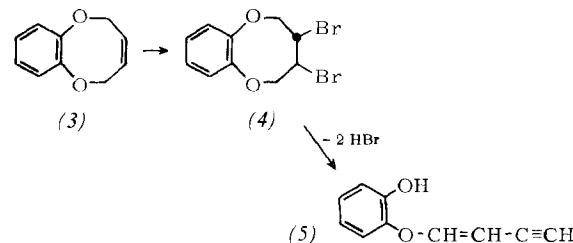
Von W. Schroth und B. Werner^[*]

Heterocyclen des Typs (1), $\text{X} = \text{O}, \text{N}-\text{R}, \text{S}, (,1,4\text{-Diheterocine}^*)$ 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 Dehydrierung 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) ($\text{Kp} = 124^\circ\text{C}/10$ 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 ($\text{Kp} = 109^\circ\text{C}/13$ 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