

- [4] G. W. Kabalka, H. C. Brown, A. Suzuki, S. Honma, A. Arase u. M. Itoh, J. Amer. Chem. Soc. 92, 710 (1970).
- [5] J. R. Johnson u. M. G. Van Campen, J. Amer. Chem. Soc. 60, 121 (1938).
- [6] A. G. Davies u. D. G. Hare, J. Chem. Soc. 1959, 438.
- [7] M. H. Abraham u. A. G. Davies, J. Chem. Soc. 1959, 429.
- [8] P. J. Krusic u. J. K. Kochi, J. Amer. Chem. Soc. 91, 3942 (1969).
- [9] A. G. Davies u. B. P. Roberts, J. Chem. Soc. D 1969, 699.
- [10] A. G. Davies u. B. P. Roberts, Nature Phys. Sci. 229, 221 (1971).
- [11] K. U. Ingold u. B. P. Roberts: Free Radical Substitution Reactions. Interscience, New York 1971, S. 46ff.
- [12] A. G. Davies, S. C. W. Hook u. B. P. Roberts, J. Organometal. Chem. 22, C37 (1970).
- [13] A. G. Davies, persönliche Mitteilung, 1. Mai 1970.
- [14] Triarylborane mit stark raumbeanspruchenden Gruppen, z. B. Trimesitylborane, sind gegen Sauerstoff stabil und können ohne besondere Vorsichtsmaßnahmen an der Luft gehandhabt werden. H. C. Brown u. V. H. Dodson, J. Amer. Chem. Soc. 79, 2302 (1957).
- [15] A. G. Davies, K. U. Ingold, B. P. Roberts u. R. Tudor, J. Chem. Soc. B 1971, 698.
- [16] S. B. Mirviss, J. Amer. Chem. Soc. 83, 3051 (1961).
- [17] S. B. Mirviss, J. Org. Chem. 32, 1713 (1967).
- [18] H. C. Brown, M. M. Midland u. G. W. Kabalka, J. Amer. Chem. Soc. 93, 1024 (1971).
- [19] Wir benutzten den kleinen automatischen Hydrogenator, C. A. Brown u. H. C. Brown, J. Amer. Chem. Soc. 84, 2829 (1962), der zur Erzeugung von Sauerstoff modifiziert wurde [18], so daß die Absorptionsgeschwindigkeit und die Menge des absorbierten Sauerstoffs genau verfolgt werden konnten.
- [20] H. C. Brown u. G. Zweifel, J. Amer. Chem. Soc. 83, 2544 (1961).
- [21] G. Wilke u. P. Heimbach, Liebigs Ann. Chem. 652, 7 (1962).
- [22] H. C. Brown u. M. M. Midland, J. Amer. Chem. Soc. 93, 4078 (1971).
- [23] H. R. Williams u. H. S. Mosher, J. Amer. Chem. Soc. 76, 2984, 2987 (1954).
- [24] C. Walling u. S. A. Buckler, J. Amer. Chem. Soc. 77, 6032 (1955).
- [25] A. Suzuki, A. Arase, H. Matsumoto, M. Itoh, H. C. Brown, M. M. Rogić u. M. W. Rathke, J. Amer. Chem. Soc. 89, 5708 (1967).
- [26] H. C. Brown, M. M. Rogić, M. W. Rathke u. G. W. Kabalka, J. Amer. Chem. Soc. 89, 5709 (1967).
- [27] H. C. Brown u. E. Negishi, J. Organometal. Chem. 28, C1 (1971).
- [28] H. C. Brown u. E. Negishi, J. Amer. Chem. Soc. 93, 3777 (1971).
- [29] A. Suzuki, S. Nozawa, M. Itoh, H. C. Brown, E. Negishi u. S. K. Gupta, J. Chem. Soc. D 1969, 1009.
- [30] H. C. Brown, E. Negishi u. S. K. Gupta, J. Amer. Chem. Soc. 92, 2460 (1970).
- [31] F. F. Blicke, Org. Reactions 1, 303 (1942).
- [32] J. H. Brewster u. E. L. Eliel, Org. Reactions 7, 99 (1953).
- [33] H. C. Brown, M. W. Rathke, G. W. Kabalka u. M. M. Rogić, J. Amer. Chem. Soc. 90, 4166 (1968).
- [34] H. C. Brown, G. W. Kabalka, M. W. Rathke u. M. M. Rogić, J. Amer. Chem. Soc. 90, 4165 (1968).
- [35] R. E. Lutz u. W. G. Revely, J. Amer. Chem. Soc. 63, 3184 (1941).
- [36] P. J. Flory: Principles of Polymer Chemistry. Cornell University Press, Ithaca, 1953, S. 55.
- [37] P. D. Bartlett u. T. Funahashi, J. Amer. Chem. Soc. 84, 2596 (1962).
- [38] F. J. Welch, J. Polymer Sci. 61, 243 (1962).
- [39] H. C. Brown u. G. W. Kabalka, J. Amer. Chem. Soc. 92, 712 (1970).
- [40] H. C. Brown u. G. W. Kabalka, J. Amer. Chem. Soc. 92, 714 (1970).
- [41] A. Suzuki, S. Nozawa, M. Itoh, H. C. Brown, G. W. Kabalka u. G. W. Holland, J. Amer. Chem. Soc. 92, 3503 (1970).
- [42] In Bearbeitung mit Dr. G. W. Holland.
- [43] A. Suzuki, N. Miyaura, M. Itoh, H. C. Brown, G. W. Holland u. E. Negishi, J. Amer. Chem. Soc. 93, 2792 (1971).
- [44] H. C. Brown, W. R. Heydkamp, E. Breuer u. W. S. Murphy, J. Amer. Chem. Soc. 86, 3565 (1964).
- [45] J. G. Sharefkin u. H. D. Banks, J. Org. Chem. 30, 4313 (1965).
- [46] A. G. Davies, S. C. W. Hook u. B. P. Roberts, J. Organometal. Chem. 23, C11 (1970).
- [47] H. C. Brown u. M. M. Midland, J. Amer. Chem. Soc. 93, 3291 (1971).
- [48] W. A. Pryor u. T. L. Pickering, J. Amer. Chem. Soc. 84, 2705 (1962).
- [49] M. M. Midland u. H. C. Brown, J. Amer. Chem. Soc. 93, 1506 (1971).
- [50] H. C. Brown u. M. M. Midland, J. Chem. Soc. D 1971, 699.
- [51] A. Suzuki, S. Nozawa, M. Harada, M. Itoh, H. C. Brown u. M. M. Midland, J. Amer. Chem. Soc. 93, 1508 (1971).
- [52] H. C. Brown, M. W. Rathke u. M. M. Rogić, J. Amer. Chem. Soc. 90, 5038 (1968).
- [53] H. C. Brown u. C. H. Snyder, J. Amer. Chem. Soc. 83, 1001 (1961).
- [54] H. C. Brown, C. Verbrugge u. C. H. Snyder, J. Amer. Chem. Soc. 83, 1002 (1961).
- [55] E. Frankland, J. Chem. Soc. 15, 363 (1862).

ZUSCHRIFTEN

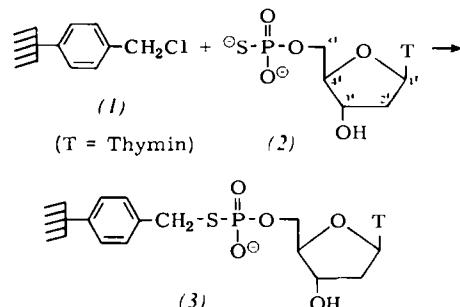
Synthese von Oligo-desoxyribonucleotiden mit 5'-terminaler Phosphat-Gruppe

Von Hans Sommer und Friedrich Cramer^[*]

Bei den meisten Oligonucleotid-Synthesen^[1] am polymeren Träger wird zunächst ein Nucleosid mit seiner 5'-OH-Gruppe am Träger befestigt. Abspaltung des synthetisierten Oligonucleotids ergibt wieder eine freie 5'-OH-Gruppe, die bei weiterer Verwendung des Produktes in Blockkondensationen^[2] phosphoryliert werden muß. Dieser zusätzliche Schritt lässt sich vermeiden, wenn man ein Nucleotid über die 5'-Phosphat-Gruppe an den Träger heftet. Bislang sind zwei Methoden dieser Art beschrieben^[3].

[*] Dr. H. Sommer und Prof. Dr. F. Cramer
Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abt. Chemie
34 Göttingen, Hermann-Rein-Str. 3

[**] Das käufliche Polymer von Bio-Rad Laboratories, Richmond, Calif., lieferte schlechtere Ausbeuten.



Wir haben eine neue Methode gefunden, die es in einfacher Weise gestattet, Oligonucleotide mit 5'-Phosphat-Gruppen zu synthetisieren. Als Träger wird ein zu 5% vernetztes makroporöses Chlormethylpolystyrol (1)^[**] verwendet (die Chlormethylierung des Polystyrols erfolgte nach Merrifield^[4]), das 0.75 mmol Chlormethyl-Gruppen pro g Polymer besitzt. Es wird in 24 Std. bei 60°C in Dimethylformamid mit einem 1.3-fachen Überschuß des Na-Salzes

von Thymidin-5'-phosphorothioat (2)^[5] unter S-Alkylierung^[6] zu (3) umgesetzt. Der Grad der Beladung mit (2) hängt ab von der Reaktionszeit, der Temperatur und dem Mengenverhältnis der Reaktionspartner. Er liegt zwischen 0.083 und 0.41 mmol pro g Polymer. Optimal für Oligonucleotidsynthesen ist ein Beladungsgrad von 0.175 bis 0.27 mmol pro g Polymer. Nicht verbrauchte Chlor-methylgruppen werden mit 2 n Na-Methylat in wasserfreiem Pyridin (1:6) während 1 Std. bei Raumtemperatur veräthert.

Der schrittweise Aufbau der Oligonucleotidkette erfolgt durch Verknüpfung der freien 3'-OH-Gruppe mit einem 3- bis 5-fachen Überschuß an geschütztem 3'-O-Acetyl-desoxyribonucleosid-5'-phosphat in wasserfreiem Pyridin während 6 bis 8 Std. bei Raumtemperatur in Gegenwart von 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonsäurechlorid (TPSCl) als Kondensationsmittel (2.5-facher Überschuß bezogen auf die Phosphat-Komponente). Nach Abspaltung der 3'-O-Acetylgruppe mit 2 n Na-Methylat in wasserfreiem Pyridin (1:9) in 25 min bei Raumtemperatur kann der nächste Kondensationsschritt erfolgen.

Die Abspaltung des Oligonucleotids vom Polymeren gelingt mit Jod (10 mg/ml) in Pyridin/Wasser (3:1) während 20 Std. bei Raumtemperatur. Die Schutzgruppen bleiben dabei erhalten, und an C-5' des abgespaltenen Produktes steht die Gruppierung $-O-PO_3^{2-}$. Nach dieser Methode wurden folgende Oligo-desoxyribonucleotide dargestellt und durch Papierchromatographie und enzymatischen Abbau mit Phosphodiesterase charakterisiert (die Ausbeuten beziehen sich auf die letzte Kondensationsstufe)^[7]:

(pdT) ₂	39%	(pdT) ₃	25%	(pdT) ₄	19%	(pdT) ₅	21%
pdTpdan ⁴ C	23%	pdTpdan ⁴ CpdT	18%				
pdTpdbz ⁶ A	21%	pdTpdbz ⁶ ApdT	25%				

Eingegangen am 2. Juni 1972 [Z 661]

[1] H. Hayatsu u. H. G. Khorana, J. Amer. Chem. Soc. 88, 3182 (1966); F. Cramer u. H. Köster, Angew. Chem. 80, 488 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 473 (1968); L. R. Melby u. D. R. Stroback, J. Org. Chem. 34, 421 (1969); R. L. Letsinger u. V. Mahadevan, J. Amer. Chem. Soc. 88, 5319 (1966); K. F. Yip u. K. C. Tsou, J. Amer. Chem. Soc. 93, 3272 (1971); T. Kusama u. H. Hayatsu, Chem. Pharm. Bull. 18, 319 (1970).

[2] A. Kumar u. H. G. Khorana, J. Amer. Chem. Soc. 91, 2743 (1969).
[3] G. M. Blackburn, M. J. Brown u. M. R. Harris, J. Chem. Soc. C 1967, 2438; W. Freist u. F. Cramer, Angew. Chem. 82, 358 (1970); Angew. Chem. internat. Edit. 9, 368 (1970).

[4] R. B. Merrifield, Biochemistry 3, 1385 (1964).

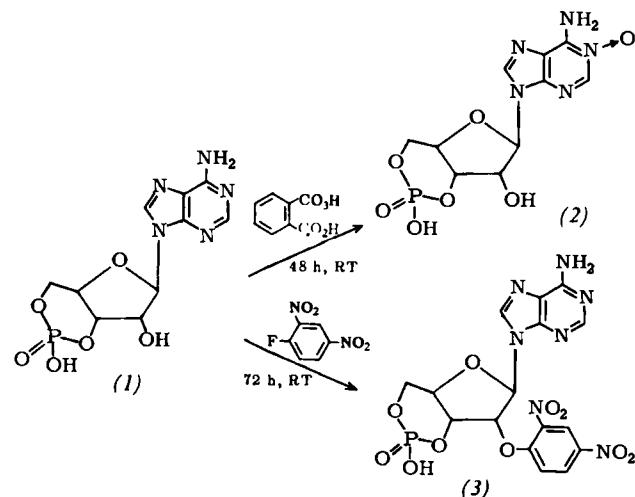
[5] Modifiziert nach A. W. Murray u. M. R. Atkinson, Biochemistry 7, 4023 (1968).

[6] A. F. Cook, M. J. Holman, A. L. Nussbaum, J. Amer. Chem. Soc. 91, 6479 (1969); A. F. Cook, J. Amer. Chem. Soc. 92, 190 (1970).

[7] Abkürzungen nach IUPAC-IUB, Eur. J. Biochem. 15, 203 (1970): pdT = Thymidin-5'-phosphat, pdan⁴C = N⁴-Anisoyl-desoxycytidin-5'-phosphat, pdbz⁶A = N⁶-Benzoyl-desoxyadenosin-5'-phosphat.

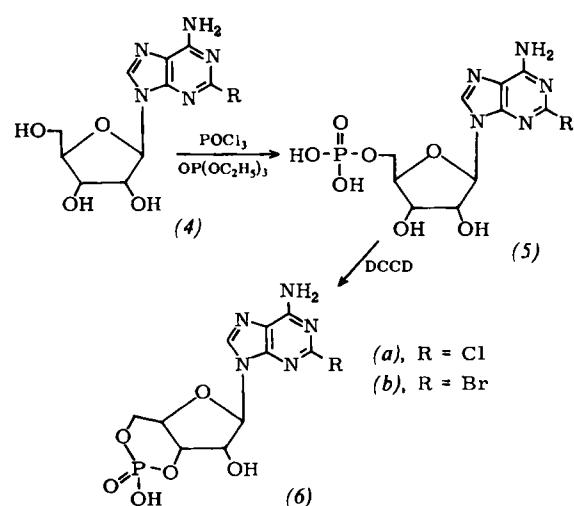
worden^[1]. In jüngster Zeit wurden zahlreiche Derivate des c-AMP synthetisiert^[2], um Substanzen mit spezifischer biologischer Aktivität zu erhalten und um die molekulare Wechselwirkung mit dem Rezeptor aufzuklären. Wir berichten hier über die Darstellung von Derivaten, in denen die Positionen N-1, C-2 und C-2' modifiziert sind.

Bei der Modifizierung von N-1 bzw. C-2' gingen wir von Adenosin-3',5'-cyclophosphorsäure (1) aus.



Aus Adenosin-3',5'-cyclophosphorsäure (1) erhält man das 1-N-Oxid (2) durch Oxidation (48 Std., Raumtemperatur) mit Monoperphthalsäure^[3] in Phosphatpuffer (pH = 7)^[4] mit 78% Ausbeute (papierchromatographische Isolierung).

Der Dinitrophenyläther (3) wurde durch Umsetzung (72 Std., Raumtemperatur) des Tri-n-butylammonium-



salzes von (1) mit 4 Äquivalenten 2,4-Dinitrofluorbenzol in DMF/Diisopropyläthylamin (Hünig Base) (40:1) mit 66% Ausbeute dargestellt und durch präparative Schicht-chromatographie isoliert. Die C-2 substituierten Derivate (6) lassen sich nicht direkt aus c-AMP erhalten. Zu ihrer Darstellung wurden die 2-Halogen-nucleoside (4)^[5] mit POCl₃ in Triäthylphosphat phosphoryliert^[6] [Ausbeuten: (5a): 68%, (5b): 61%] und die 5'-Phosphate (5) mit Dicyclohexylcarbodiimid in wasserfreiem Pyridin/DMSO^[7] cyclisiert [Ausbeuten: (6a): 72%, (6b): 55%].

Neue Analoge des Adenosin-3',5'-cyclophosphats

Von Bernd Jastorff und Wolfgang Freist^[*]

Adenosin-3',5'-cyclophosphat (c-AMP) ist in den letzten Jahren als eines der wichtigsten niedermolekularen Regulationsmoleküle auf allen Stufen der Evolution erkannt

[*] Dr. B. Jastorff und Dr. W. Freist
Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin,
Abteilung Chemie
34 Göttingen, Hermann-Rein-Straße 3