

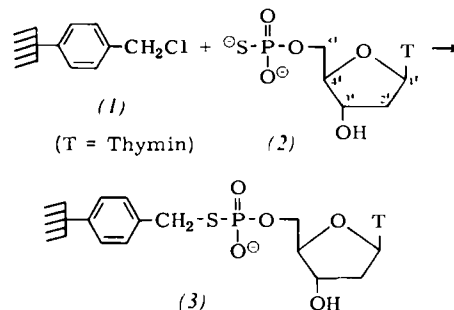
- [4] G. W. Kabalka, H. C. Brown, A. Suzuki, S. Honma, A. Arase u. M. Itoh, *J. Amer. Chem. Soc.* 92, 710 (1970).
- [5] J. R. Johnson u. M. G. Van Campen, *J. Amer. Chem. Soc.* 60, 121 (1938).
- [6] A. G. Davies u. D. G. Hare, *J. Chem. Soc.* 1959, 438.
- [7] M. H. Abraham u. A. G. Davies, *J. Chem. 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] Triärylborene mit stark raumbeanspruchenden Gruppen, z. B. Trimesitylborene, 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].



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

[*] 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.

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 (TPSCI) 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 $-\text{O}-\text{PO}_3^{2-}$. 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. Strobach, 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.

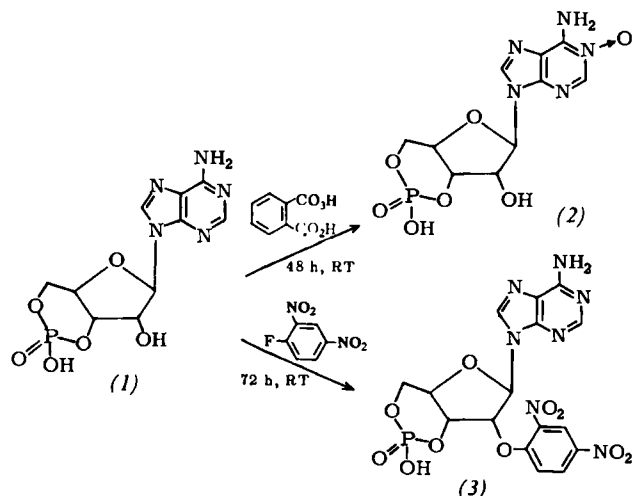
Neue Analoge des Adenosin-3',5'-cyclophosphats

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

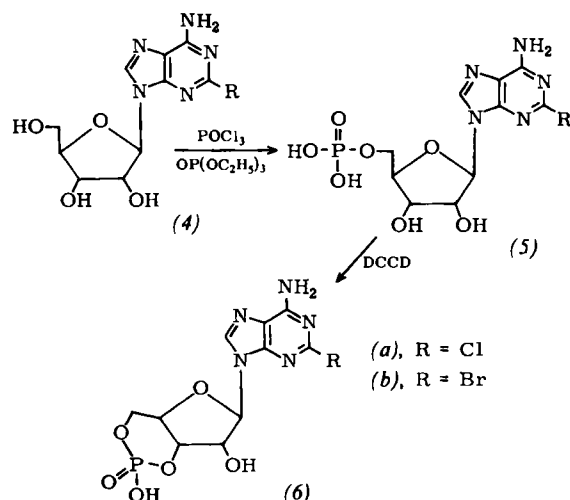
worden^[1]. In jüngster Zeit wurden zahlreiche Derivate des c-AMP synthetisiert^[2], um Substanzen mit spezifischer biologischer Aktivität zu erhalten und um die molekulare Wechselwirkung mit dem Rezeptor aufzuklären. Wir berichten hier über die Darstellung von Derivaten, in denen die Positionen N-1, 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 Schichtchromatographie isoliert. Die C-2 substituierten Derivate (6) lassen sich nicht direkt aus c-AMP erhalten. Zu ihrer Darstellung wurden die 2-Halogennucleoside (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%].

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