

- [220] Belg. Pat. 618095 (1961), Knapsack-Griesheim.
 [221] Jap. Pat. 13448/67 (1965), Toyo Rayon.
 [222] US-Pat. 3475 298 (1966), Du Pont.
 [223] Franz. Pat. 1489206 (1966), Solvay.
 [224] J. Grimshaw u. J. S. Ramsey, J. Chem. Soc. B 1968, 60.
 [225] J. G. Lawless, D. E. Bartak u. M. D. Hawley, J. Amer. Chem. Soc. 91, 7121 (1969).
 [226] K. Brand u. M. Matsui, Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 2939 (1913).
 [227] J. K. Mogto, J. Kossanyi u. J. Wiemann, C. R. Acad. Sci. C 267, 779 (1968).
 [228] W. H. Harwood, R. M. Hurd u. W. H. Jordan jr., Ind. Eng. Chem., Proc. Des. Develop. 2, 72 (1963).
 [229] F. Haber, Z. Elektrochem. 4, 506 (1898).
 [230] M. J. Fiosin u. A. P. Tomilow, Khim. Prom. SSSR 43, 243 (1967).
 [231] K. Udupa, G. Subramanian u. H. Udupa, J. Electrochem. Soc. 108, 373 (1961).
 [232] T. D. Balakrishnan, K. S. Udupa, G. S. Subramanian u. H. V. K. Upada, Chem.-Ing.-Tech. 41, 776 (1969).
 [233] M. M. Baizer, J. Org. Chem. 29, 1670 (1964).
 [234] K. Sugino, K. Shiray u. T. Nonaka, Bull. Chem. Soc. Jap. 37, 1895 (1964).
 [235] H. Rosen, Y. Arad, M. Levy u. D. Vofsi, J. Amer. Chem. Soc. 91, 1425 (1969).
 [236] S. M. Makarockina u. A. P. Tomilow, Zh. Obshch. Khim. 40, 3676 (1970).
 [237] M. M. Baizer, J. P. Petrovich u. D. A. Tyssec, J. Electrochem. Soc. 117, 173 (1970).
 [238] M. M. Baizer u. J. L. Chruma, J. Electrochem. Soc. 118, 450 (1971).
 [239] A. P. Tomilow et al., UdSSR-Pat. 194088 (1966).
 [240] US-Pat. 3218245 (1963), Monsanto.
 [241] M. M. Baizer u. J. D. Anderson, J. Org. Chem. 30, 3138 (1965).
 [242] J. Wiemann u. M. L. Bouquerra, C. R. Acad. Sci. C 265, 751 (1967).
 [243] M. M. Baizer u. J. D. Anderson, J. Org. Chem. 30, 1348 (1965).
 [244] M. J. Allen u. M. J. Levine, J. Chem. Soc. 1952, 254; M. J. Allen J. A. Siragusa u. W. Pierson, ibid. 1960, 1045; M. J. Allen et al., ibid. 1961, 757, 2081.
 [245] M. Nicolas u. R. Pallaud, C. R. Acad. Sci. C 267, 1834 (1968).
 [246] K. Sugino u. T. Nonaka, J. Electrochem. Soc. 112, 1241 (1965).
 [247] K. Sugino, Jap. Pat. 14446/68 (1965).
 [248] O. R. Brown u. K. Lister, Discuss. Faraday Soc. 45, 106 (1968).
 [249] M. Nicolas u. R. Pallaud, C. R. Acad. Sci. C 265, 1044 (1967); C 267, 1834 (1968).
 [250] T. Nonaka u. K. Sugino, J. Electrochem. Soc. 116, 615 (1969).
 [251] A. P. Tomilow u. B. L. Kljuet, Zh. Obshch. Khim. 39, 470 (1969).
 [252] A. P. Tomilow et al., UdSSR-Pat. 233651 (1967).
 [253] Jap. Pat. 9658/69 (1965), Asahi Glass Co. Ltd.
 [254] Jap. Pat. 9886/69 (1965), Asahi Glass K. K.
 [255] US-Pat. 3440154 (1966), Monsanto.
 [256] J. H. Wagenknecht u. M. M. Baizer, J. Org. Chem. 31, 3885 (1966).
 [257] M. M. Baizer, J. Org. Chem. 31, 3847 (1966).
 [258] US-Pat. 3438877 (1966), Monsanto.
 [259] Jap. Pat. 2965/69 (1966), Asahi Chem. Ind. Co. Ltd.
 [260] J. Grimshaw u. E. J. F. Rea, J. Chem. Soc. C 1967, 2628.
 [261] A. Misono, T. Osa u. T. Ueno, Nippon Kagaku Zasshi 88, 1184 (1967); Chem. Abstr. 69, 58794 C (1968).
 [262] J. D. Anderson, J. P. Petrovich u. M. M. Baizer, Advan. Org. Chem. 6, 257 (1969).
 [263] J. D. Anderson u. M. M. Baizer, Tetrahedron Lett. 1966, 511.
 [264] J. D. Anderson, M. M. Baizer u. J. P. Petrovich, J. Org. Chem. 31, 3890 (1966).
 [265] US-Pat. 3413202 (1964), Monsanto.
 [266] R. N. Gourley u. J. Grimshaw, J. Chem. Soc. C 1968, 2388.
 [267] T. Wohlfahrt, J. Prakt. Chem. [2] 65, 295 (1902).
 [268] K. Griesbaum u. P. E. Butler, Angew. Chem. 79, 467 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 444 (1967).
 [269] M. R. Rifi, J. Amer. Chem. Soc. 89, 4442 (1967).
 [270] M. R. Rifi, Tetrahedron Lett. 1969, 1043.
 [271] K. B. Wiberg u. D. S. Connor, J. Amer. Chem. Soc. 88, 4437 (1966).
 [272] A. J. Bard, Diskussionsbemerkung auf der EUCHEM-Konferenz in Ronneby (Schweden), Juni 1971.
 [273] J. L. Gerlock u. E. G. Janzen, J. Amer. Chem. Soc. 90, 1652 (1968).

ZUSCHRIFTEN

Neue dihydroxyboryl-substituierte Polymere zur säulenchromatographischen Trennung von Ribonucleosid-/Desoxyribonucleosid-Gemischen^[**]

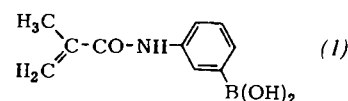
Von Herbert Schott^[*]

Zur Trennung von Gemischen aus Ribo- und Desoxyribonucleinsäure-Bausteinen durch Papierchromatographie oder Elektrophorese wird die Komplexbildung von Borsäure mit *cis*-Glykolgruppen genutzt^[1]. Dieses Prinzip ist inzwischen auch zur säulenchromatographischen Trennung dieser Gemische im analytischen Maßstab an Borsäureträgern^[2] verwendet worden.

[*] Dr. H. Schott
 Institut für Biologie III
 Universität Freiburg
 Schänzlestraße 9-11

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Für präparative Trennungen erscheinen jedoch dihydroxyboryl-substituierte Polymere („Borsäuregele“), die aus polymerisationsfähigen Borsäure-Derivaten synthetisiert werden, geeigneter als Borsäureträger, denn Borsäuregele können im Gegensatz zu Borsäureträgern prinzipiell mit beliebig großen Ausschlussgrenzen und bedeutend höherem Gehalt an Borsäureresten dargestellt werden.



Bisher war die Synthese der Borsäuregele^[3] aufwendig, und es ist unklar, ob sich diese Gele zur Trennung von Nucleinsäure-Bausteinen eignen. Wir haben einen einfachen Weg zur Darstellung von Borsäuregelelen ausgearbeitet und deren Trennwirkung an Ribonucleosid-

Desoxyribonucleosid-Gemischen untersucht. *m*-Aminobenzolborsäure wird mit Methacrylsäurechlorid zu einem polymerisationsfähigen Borsäurederivat (1) umgesetzt. Dieser Monomerbaustein copolymerisiert radikalisch mit Tetramethylen-dimethacrylat zu einem vernetzten Borsäuregel. Durch Variation der Monomer- und Vernetzerkonzentration wird es möglich, sowohl die Ausschlussgrenzen der Borsäuregele als auch den Einbau von Borsäureresten und damit die Trennkapazität weitgehend zu variieren.

Zur Trennung von ca. 1 mg eines Ribonucleosid-/Desoxyribonucleosid-Gemisches werden maximal ca. 200 mg Borsäuregel benötigt. Das Elutionsprofil (Abb. 1) dieser Trennung zeigt, daß nicht nur eine quantitative Auftrennung von Ribonucleosiden und Desoxyribonucleosiden erfolgt, sondern daß beide Gruppen vermutlich auch in Purin- und Pyrimidinkomponenten zerlegt werden.

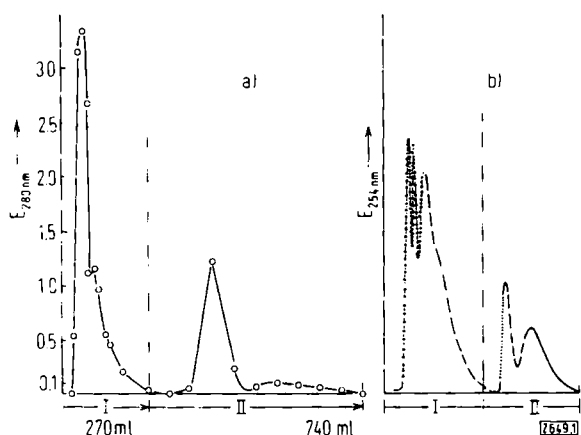


Abb. 1. Säulenchromatographische Trennung einer Mischung aus Uridin, Cytidin, Guanosin, Adenosin und den analogen Desoxyribonucleosiden an einem Borsäuregel bei 4°C. Fraktion I: 0.1-proz. NH_4OH , pH=10.5; Fraktion II: H_2O , pH=5.8. a) Elutionsprofil bei 280 nm gemessen, b) Extinktion der erhaltenen Fraktionen bei 254 nm. (Einzelheiten s. Text.)

Säulenchromatographische Trennungen von Ribonucleosid-/Desoxyribonucleosid-Gemischen wurden bisher nur in nicht flüchtigen Salzpuffern durchgeführt. An den hier beschriebenen Borsäuregelen sind Trennungen bereits in 0.1-proz. wäßrigem NH_4OH möglich; somit entfällt ein Entsalzen der isolierten Nucleoside, was gerade die präparative Trennung bedeutend erleichtert.

Arbeitsvorschrift:

Synthese des Borsäure-Derivates (1): 1.5 g käufliches Bis(*m*-dihydroxyborylanilinium)sulfat (*m*-Aminobenzolborsäure-hemisulfat) werden in 20 ml Wasser gelöst, mit NaOH neutralisiert und anschließend im Vakuum zur Trockne eingedunstet. Man löst den Rückstand in 50 ml Dioxan und filtriert ungelöstes Na_2SO_4 ab. Die klare Lösung wird im Vakuum auf ca. 5 ml eingedunstet, mit 40 ml wasserfreiem Dioxan und 5 ml wasserfreiem Triäthylamin versetzt und bis zur Bildung einer klaren Lösung kurze Zeit auf 50°C erwärmt. Zur warmen Lösung gibt man auf einmal 5 ml Methacrylsäurechlorid und kühlt anschließend im Eisbad. Nach kurzer Zeit fällt Triäthylammoniumchlorid aus, das nach 12 Std. Stehen bei Raumtemperatur abgesaugt wird. Man engt die klare gelbe Lösung im Vakuum auf 3–5 ml ein und löst den entstandenen Sirup in 15 ml Dioxan/Äthanol (1:1).

Polymerisation: Man gibt zur obigen Lösung 3 ml Tetramethylen-dimethacrylat und 0.5 g α, α' -Azo-isobuttersäuredinitril und schmilzt die vorher schwach erwärmte Lösung in eine Glasampulle ein. Nach 24 Std. Stehen bei 55°C ist ein fester Gelblock entstanden, der gemörsert, ausgesiebt und anschließend durch Extraktion im Kutscher-Steudel-Apparat mit technischem Äthanol von unvernetzten Anteilen befreit wird. Man erhält nach dem Trocknen 5 g (10 ml) eines schwach gelben, harten Polymerpulvers. Vor der Säulenfüllung läßt man die Gesamtmenge des Polymerpulvers ca. 5 Std. in 5-proz. wäßrigem Aceton quellen und erhält 30 ml Gelsuspension.

Chromatographie: Die Trennwirkung der Säule wurde zunächst an U/T-, A/dA- und C/dC-Gemischen erprobt und anschließend mit folgender Mischung aller vier Ribonucleoside und Desoxyribonucleoside getestet: a) Desoxyribonucleoside: 60 mg Thymidin, 44 mg Desoxyadenosin, 25 mg Desoxyguanosin und 63 mg Desoxycytidin in 15 ml H_2O gelöst; $E_{280} = 282$. b) Ribonucleoside: 60 mg Uridin, 41 mg Adenosin, 16 mg Guanosin und 52 mg Cytidin in 13 ml H_2O gelöst; $E_{280} = 248$. 0.5 ml der Desoxyribonucleosid- und 1.5 ml der Ribonucleosid-Lösung wurden auf eine mit Borsäuregel gefüllte Säule (10/2 cm) gegeben und bei 4°C und einer Laufgeschwindigkeit von 68 ml/Std. zuerst mit 270 ml 0.1-proz. wäßrigem NH_4OH (pH=10.5), anschließend mit 900 ml Wasser (pH=5.8) eluiert. Das bei 280 nm ausgemessene Elutionsprofil ist in Abbildung 1a wiedergegeben; Abbildung 1b zeigt als Kontrolle die bei 254 nm automatisch registrierte Extinktion der einzelnen Fraktionen des gleichen Laufs. Aliquote der vereinigten Fraktionen (I und II) wurden papierchromatographisch im Boratsystem^[1] charakterisiert. Fraktion I enthält praktisch ausschließlich Desoxyribonucleoside (142 OD_{280} -Einheiten), während die Ribonucleoside (341 OD_{280} -Einheiten) in Fraktion II enthalten sind. Die Elution der Ribonucleoside wird durch pH-Erniedrigung (z.B. H_2O , pH=5.8) stark beschleunigt, da bei niedrigem pH-Wert der Borsäurekomplex instabil wird.

Eingegangen am 19. April 1972

Auf Wunsch des Autors erst jetzt veröffentlicht [Z. 649]

[1] J. X. Khym, Methods Enzymol. 12, 93 (1967).

[2] H. L. Weith, J. L. Wiebers u. P. T. Gilham, Biochemistry 9, 4396 (1970); M. Rosenberg u. P. T. Gilham, Biochim. Biophys. Acta 246, 337 (1971).

[3] J. Solma u. H. Deuel, Chimia 11, 311 (1957); R. L. Letsinger u. S. B. Hamilton, J. Amer. Chem. Soc. 81, 3009 (1959).

Beeinflussung der Bindungsstärken im Aziridin und Oxiran durch Protonierung^[1]

Von Wolf-Dieter Stohrer und Roald Hoffmann^[2]

Die Bindungsstärken und die gesamte Gleichgewichtsstruktur von Cyclopropanen sollten durch Substituenten, die als π -Acceptoren oder π -Donoren wirken, beeinflusst werden^[2,3]. Wir haben jetzt gefunden, daß die C—C-Bindung in Oxiranen und Aziridinen durch Protonierung oder sonstige koordinative Bindung des einsamen Elektronenpaares am Heteroatom verstärkt werden sollte.

So wächst durch Protonierung des Aziridins (1) der Wert für das „overlap population“ der C—C-Bindung nach einer

[*] Dr. W.-D. Stohrer [**] und Prof. Dr. Roald Hoffmann
Cornell University, Department of Chemistry
Ithaca, N. Y. 14850 (USA)

[**] Jetzige Adresse: Institut für Organische Chemie I der Universität 6 Frankfurt/Main, Robert-Mayer-Straße 7-9