

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.

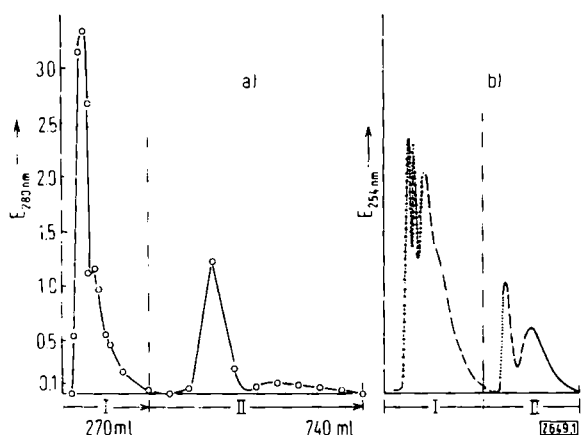


Abb. 1. Säulenchromatographische Trennung einer Mischung aus Uridin, Cytidin, Guanosin, Adenosin und den analogen Desoxyribonucleosiden an einem Borsäuregel bei 4°C. Fraktion I: 0.1-proz. NH_4OH , pH=10.5; Fraktion II: H_2O , pH=5.8. a) Elutionsprofil bei 280 nm gemessen. b) Extinktion der erhaltenen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

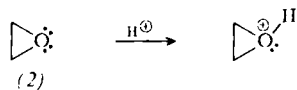
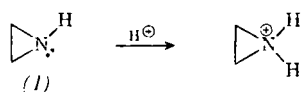
Die Bindungsstärken und die gesamte Gleichgewichtsstruktur von Cyclopropanen sollten durch Substituenten, die als π -Acceptoren oder π -Donoren wirken, beeinflusst werden^[2,3]. Wir haben jetzt gefunden, daß die C—C-Bindung in Oxiranen und Aziridinen durch Protonierung oder sonstige koordinative Bindung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

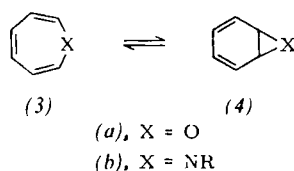
EH-Rechnung^[14] von 0.648 auf 0.666, nach einer ab-initio-Rechnung^[5] von 0.262 auf 0.291. Beim Oxiran (2) tritt ein Effekt ähnlicher Größe auf. Eine Erklärung dieses Befundes kann aufgrund störungstheoretischer Argumente gegeben werden^[6].



Die strukturellen Hinweise auf diesen Protonierungseffekt sind nicht eindeutig. Mehrere Kristallstrukturanalysen von Aziridiniumsalzen^[7] zeigen keine konsistente Verringerung der C—C-Bindungslänge. Im Aziridin-Boran^[9] und in einem trimeren Dimethylaluminiumazirid^[10] ist die C—C-Bindung deutlich, wenn auch nur wenig kürzer als in Aziridin selbst^[8].

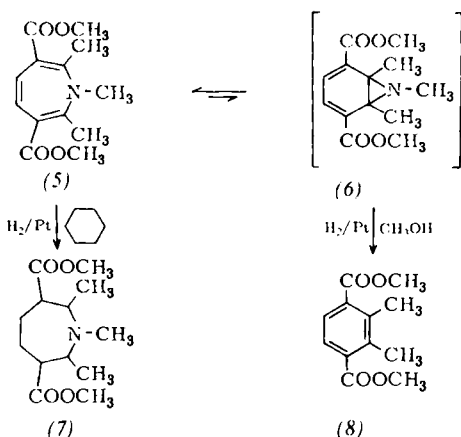
Die thermodynamischen und kinetischen Hinweise auf einen Protonierungseffekt sind fragmentarisch, aber, wie wir glauben, in Übereinstimmung mit unseren Rechnungen:

1. Im Gleichgewicht (3a) \rightleftharpoons (4a) ist die bicyclische Form um so mehr begünstigt, je polarer das Lösungsmittel ist^[11–13].



Die Bedeutung dieses Gleichgewichtes im ersten Stadium der enzymatischen Bildung von Phenolen^[14] und allgemein bei der säurekatalysierten Aromatisierung von Oxepinen^[11, 13, 15a] sollte zur Kenntnis genommen werden.

2. Zum Einfluß der Protonierung oder einer koordinativen Bindung auf das Gleichgewicht (3b) \rightleftharpoons (4b) gibt es nur einige indirekte Beobachtungen^[16]. Das substituierte Azepin (5) kann in Lösung über Platin hydriert werden^[17].



Das Produkt hängt von der Natur des Lösungsmittels ab. Im unpolaren Cyclohexan erhält man (7). Im polaren Methanol, das mit dem Stickstoff eine Wasserstoffbrücken-Bindung bilden kann, entsteht (8). Die verschiedenen Produkte können mit der Annahme erklärt werden, daß inter-

mediär (6) auftritt^[13, 17], dessen Existenz im polaren Lösungsmittel begünstigt sein sollte. Analog läßt sich die rasche Aromatisierung von Azepinen zu Anilinen unter dem Einfluß von Säuren^[13, 15, 18–20] verstehen. Bei dieser Reaktion wird das intermediäre Auftreten des bicyclischen Azanocaradiens (4b) formuliert^[13, 15, 18a, 19], dessen Existenz im Gleichgewicht (3b) \rightleftharpoons (4b) durch Protonierung begünstigt werden sollte^[21].

Eingegangen am 18. Mai 1972 [Z. 670]

[1] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ein Stipendium (W.-D.S.) und der National Science Foundation für die finanzielle Unterstützung unserer Untersuchungen.

[2] R. Hoffmann, *Tetrahedron Lett.* 1970, 2907; R. Hoffmann u. W.-D. Stohrer, *J. Amer. Chem. Soc.* 93, 6941 (1971); R. Hoffmann in: *Special Lectures at XXIIIrd International Congress of Pure and Applied Chemistry*, Butterworth, London 1971, Bd. 2, S. 233.

[3] Vgl. H. Günther, *Tetrahedron Lett.* 1970, 5173.

[4] R. Hoffmann, *J. Chem. Phys.* 39, 1397 (1963); R. Hoffmann u. W. N. Lipscomb, *ibid.* 36, 2179 (1962); 37, 2872 (1962). Die Geometrie des Aziridinringes war für protonierte und unprotonierte Form gleich.

[5] R. Bonaccorsi, E. Scrocco u. J. Tomasi, *J. Chem. Phys.* 52, 5270 (1970). Wir danken Dr. Scrocco für die Mitteilung dieser Ergebnisse.

[6] Die Argumente beinhalten einen Effekt zweiter Ordnung; R. Hoffmann, L. Libit, W.-D. Stohrer u. J. Swenson, unveröffentlichte Ergebnisse.

[7] a) L. M. Trefonas, R. Towns u. R. Majeste, *J. Heterocyclic Chem.* 4, 511 (1967); L. M. Trefonas u. R. Towns, *ibid.* 1, 19 (1964).

b) Zu Strukturen einiger damit zusammenhängender Aziridine vgl.: L. M. Trefonas u. R. Majeste, *J. Heterocyclic Chem.* 2, 80 (1965); L. M. Trefonas u. T. Sato, *ibid.* 3, 404 (1966); H. M. Zacharis u. L. M. Trefonas, *ibid.* 5, 343 (1968); 7, 755, 1301 (1970); J. N. Brown, R. L. R. Towns u. L. M. Trefonas, *ibid.* 7, 1321 (1970).

[8] T. E. Turner, V. C. Fiora u. W. M. J. Kendrick, *J. Chem. Phys.* 23, 1966 (1955).

[9] H. Ringertz, *Acta Chem. Scand.* 23, 137 (1969).

[10] J. L. Atwood u. G. D. Stucky, *J. Amer. Chem. Soc.*, 92, 285 (1970).

[11] a) E. Vogel, W. A. Böll u. H. Günther, *Tetrahedron Lett.* 1965, 609.

b) E. Vogel u. H. Günther, *Angew. Chem.* 79, 429 (1967); *Angew. Chem. internat. Edit.* 6, 385 (1967).

[12] H. Prinzbach u. P. Vogel, *Helv. Chim. Acta* 52, 396 (1969); H. Prinzbach, P. Vogel u. W. Auge, *Chimia* 21, 469 (1967).

[13] G. Maier, *Angew. Chem.* 79, 446 (1967); *Angew. Chem. internat. Edit.* 6, 402 (1967).

[14] a) D. M. Jerina, J. W. Daly, B. Witkop, P. Zaltzman-Nirenberg u. S. Udenfriend, *J. Amer. Chem. Soc.* 90, 6525 (1968); *Biochemistry* 9, 147 (1970).

b) D. M. Jerina, J. W. Daly u. B. Witkop, *J. Amer. Chem. Soc.* 90, 6523 (1968).

c) G. J. Kasperek u. T. C. Bruice, *J. Amer. Chem. Soc.* 94, 198 (1972).

d) D. M. Jerina, N. Kaubisch u. J. W. Daly, *Proc. Natl. Acad. Sci. (US)* 68, 2545 (1971).

e) N. Kaubisch, J. W. Daly u. D. Jerina, *Biochemistry*, im Druck.

f) G. J. Kasperek, T. C. Bruice, H. Yagi, N. Kaubisch u. D. M. Jerina, *J. Amer. Chem. Soc.*, im Druck. Wir danken Dr. Bruice, daß er uns auf diese Untersuchungen aufmerksam gemacht hat.

[15] a) L. A. Paquette in: *Nonbenzenoid Aromatics*, Academic Press, New York und London 1969, Band 1, S. 249.

b) L. A. Paquette, D. E. Kuhla u. J. H. Barrett, *J. Org. Chem.* 34, 2879 (1969).

[16] Für einen Hinweis auf das Gleichgewicht (3b) \rightleftharpoons (4b) siehe: H. Prinzbach, D. Stusche u. R. Kitzing, *Angew. Chem.* 82, 393 (1970). *Angew. Chem. internat. Edit.* 9, 377 (1970).

[17] R. F. Childs u. A. W. Johnson, *Chem. Commun.* 1965, 95; *J. Chem. Soc. C* 1966, 1950.

[18] a) K. Hafner, *Angew. Chem.* 75, 1041 (1963).

b) K. Hafner, D. Zinser u. K.-L. Moritz, *Tetrahedron Lett.* 1964, 1733.

[19] F. D. Marsh u. H. E. Simmons, *J. Amer. Chem. Soc.* 87, 3529 (1965).

[20] L. E. Chapman u. R. F. Robbins, *Chem. Ind. (London)* 1966, 1266.

[21] Im Falle der Alkoxy-carbonylazepine ist für unser Argument nicht entscheidend, ob die Protonierung direkt am Stickstoff stattfindet, oder wie vorgeschlagen [15, 18a] – an der Alkoxy-carbonylgruppe; in beiden Fällen wird das einsame Elektronenpaar am Stickstoff gebunden, im ersten Fall durch Bildung einer N—H-Bindung, im zweiten Fall durch Bildung einer N=C-Bindung.