

nach Gl. (1b)^[1] oder auch zu GeX_4 , GeX_2 und H_2 ^[2]. Trijodgerman, HGeJ_3 , wurde lediglich als Intermediärprodukt bei Germylie rungsreaktionen von Olefinen mit GeJ_2 /57-proz. wäsr. HJ vermutet^[3, 4].

Nachdem uns durch Auflösen von GeBr_2 ^[5] in wasserfreiem HBr die Darstellung von reinem, GeBr_4 -freiem HGeBr_3 gelungen war, haben wir nun gefunden, daß HGeJ_3 beim Aufkondensieren von wasserfreiem HJ auf reines GeJ_2 in quantitativer Ausbeute entsteht [Gl. (1a)]:



Die schwach gelbliche Lösung ist unterhalb -50°C haltbar, bei Raumtemperatur tritt allmählich Zersetzung nach



(ca. 50 % nach 7 d) ein, Dismutation zu H_2GeJ_2 und GeJ_4 ist nicht zu beobachten. Beim Abziehen des Lösungsmittels HJ, selbst bei tiefer Temperatur, verbleibt nur GeJ_2 als fester Rückstand [Gl. (1b)]. Auch andere Darstellungsversuche durch Umhalogenierung mit HGeCl_3/HJ , $\text{HGeCl}_3/\text{GeJ}_4$ oder $\text{HGeCl}_3/\text{HSiJ}_3$ als Reaktanden führten zu GeJ_2 . Hingegen entsteht HGeJ_3 glatt beim Aufkondensieren von überschüssigem HJ auf GeBr_2 . In einer Suspension von GeJ_2 in 57-proz. wäsr. HJ konnten wir jedoch keine Bildung von Trijodgerman feststellen.

Demnach ist HGeJ_3 nur in flüssigem HJ existenzfähig, so daß auch sein Raman-Spektrum an solchen Lösungen vermessen wurde. Es zeigt die für ein C_{3v} -Molekül geforderten drei polarisierten sowie drei depolarisierten Linien (Tabelle 1). Die Frequenzen sind in den erwarteten Bereichen, die sich aus Korrelationen und vergleichenden Schwingungsberechnungen für die Reihen HGeX_3 ($\text{X} = \text{Cl}$, Br ^[6], J) und $\text{HGeX}_3/\text{GeX}_4$ ergeben.

Tabelle 1. Grundschwingungen (cm^{-1}) aus dem Raman-Spektrum von HGeJ_3 .

Rasse	$\tilde{\nu}$	Zuordnung
A_1	ν_1	νGeH
	ν_2	$\nu_{\text{a}}\text{GeJ}_3$
	ν_3	$\delta_{\text{a}}\text{GeJ}_3$
E	ν_4	$\nu_{\text{as}}\text{GeJ}_3$
	ν_5	$\delta_{\text{as}}\text{GeJ}_3$
	ν_6	δHGeJ

νGeH und δHGeJ sind geringfügig konzentrationsabhängig; in sehr verdünnten Lösungen liegen sie um 5–8 cm^{-1} höher.

Bei der Reaktion stöchiometrischer Mengen HJ mit GeBr_2 oder einem $\text{GeBr}_4/\text{GeJ}_2$ -Gemisch bilden sich neben HGeJ_3 auch die gleichfalls nicht isolierbaren Trihalogenide HGeBr_2J_2 und HGeBr_2J , die anhand ihrer Leitfrequenzen im Raman-Spektrum (220 sst, p bzw. 239 cm^{-1} sst, p) erkannt werden können.

Eingegangen am 30. Juli 1973 [Z 896]

[1] E. Wiberg u. E. Amberger: *Hydrides of the Elements of Main Groups I–IV*. Elsevier, London 1971.

[2] M. L. Delwaille, J. Phys. Chem. 56, 355 (1952).

[3] P. Mazerolles u. G. Manuel, Bull. Soc. Chim. Fr. 1967, 2511.

[4] V. F. Mironov, L. N. Kalinina, E. M. Berliner u. T. K. Gar, Zh. Obshch. Khim. 40, 2597 (1970).

[5] M. D. Curtis u. P. Wolber, Inorg. Chem. 11, 431 (1972).

[6] H. Siebert: *Anwendungen der Schwingungsspektroskopie in der anorganischen Chemie*. Springer, Heidelberg 1966.

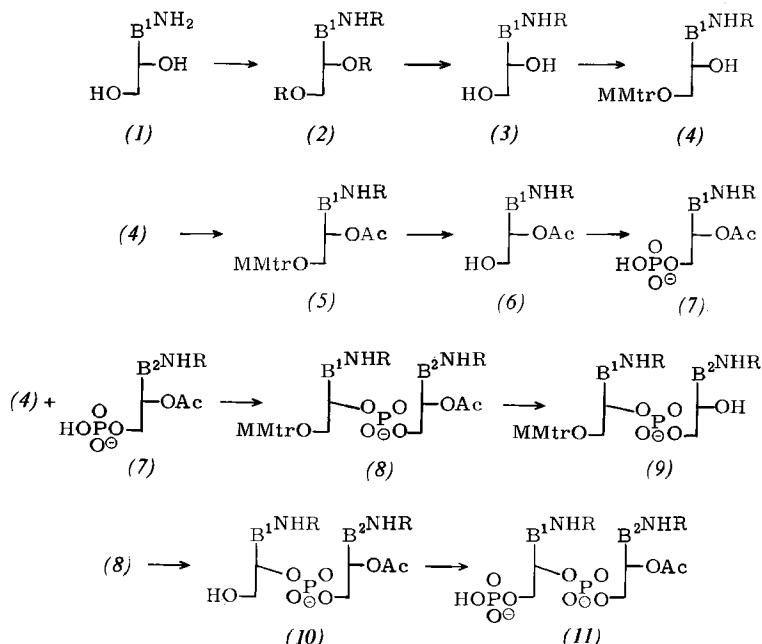
Eine neue Konzeption zur Synthese von Oligodesoxyribonucleotiden^[**]

Von Hubert Köster und Walter Heidmann^[*]

Herrn Professor Friedrich Cramer zum 50. Geburtstag gewidmet

Zur Synthese von bihelicalen Polydesoxyribonucleotiden mit definierter Sequenz nach herkömmlichen Methoden^[1] werden chemisch synthetisierte kurze Oligodesoxyribonucleotide an der freien 5'-OH-Gruppe mit dem Enzym Polynucleotid-Kinase und ATP phosphoryliert und sodann mit dem Enzym Polynucleotid-Ligase verknüpft. Die Synthese dieser kurzen Oligodesoxynucleotide beginnt vorteilhaft mit einem an der 5'-OH-Gruppe geschützten Nucleosid. Für die Verlängerung sind 3'-O-geschützte Desoxyribonucleosid-5'-phosphate (oder 3'-O-geschützte Didesoxyribonucleosiddiphosphate oder Tridesoxyribonucleosidtriphosphate) erforderlich. Um eine eindeutige 3'→5'-Inter-nucleotidbindung herbeizuführen, müssen die Aminogruppen der heterocyclischen Basen ebenfalls geschützt werden. Für die Synthese eines längeren bihelicalen Polydesoxyribonucleotids sind demnach sehr viele Zwischenprodukte erforderlich [Verbindungen vom Typ (4), (7) und (11)]. Wir entwickelten eine Konzeption, die den Aufwand bei derartigen Synthesen dadurch verringert, daß wenige Schlüsselverbindungen für mehrere Reaktionswege verwendet werden können.

Es gelang uns, 3'-O-acetylierte Desoxyribonucleoside (6) nahezu quantitativ mit Phosphorsäurechlorid direkt in die 3'-O-acetylierten Desoxyribonucleosid-5'-phosphate (7) zu überführen. Die Verbindungen (6) werden durch Acetylierung und anschließende Detritylierung der für den Kettenanfang notwendigen 5'-monomethoxytritylierten Des-



Schema 1. Zur Synthese von Oligodesoxyribonucleotiden. R = Benzoyl, Anisoyl, Isobutyl; Ac = Acetyl; MMtr = Monomethoxytrityl; B = Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin (ohne NH_2).

[*] Priv.-Doz. Dr. H. Köster und Dipl.-Chem. W. Heidmann
Institut für organische Chemie und Biochemie der Universität
2 Hamburg 13, Papendamm 6

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. -- Wir danken Herrn A. J. Sparrow für die ausgezeichnete Mitarbeit.

oxyribonucleoside (4) erhalten. Die erste Verlängerung von (4) – die Umsetzung mit (7) – führt zu 5'-monomethoxytritylierten 3'-O-acetylierten Didesoxyribonucleosidmonophosphaten (8), die schnell und in hohen Ausbeuten recht rein durch Extraktionsmethoden gewonnen werden können. Durch Abspaltung der 3'-O-Acetylgruppe entsteht (9), das für weitere Kettenverlängerungsreaktionen verwendet werden kann. Entfernt man dagegen die 5'-Monomethoxytritylgruppe von (8), so erhält man (10), das wir mit Phosphorsäurechlorid direkt zu den 3'-O-acetylierten Didesoxyribonucleosiddiphosphaten (11) phosphorylieren konnten, die sich als Blöcke für die Kettenverlängerung einsetzen lassen (Schema 1).

Wichtig ist die Verwendung einer sterisch gehinderten Base wie 2,6-Lutidin, wodurch die Reaktion eines weiteren Chloratoms sehr stark verlangsamt wird. Als Lösungsmittel für die Phosphorylierung der 3'-O-acetylierten Desoxynucleoside (6) wird Tetrahydrofuran verwendet. Die Phosphorylierung von (10) wird in heterogener Reaktion durchgeführt. Von besonderer Wichtigkeit ist das Suspensionsmittel; es geht zusammen mit einigen Ausbeuten aus Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1. Phosphorylierung von dX(Ac) und dX-dY(Ac) mit $PZCl_3$ ($Z = O, S$).

Verb. [2]	Z	Phosphorylierung [%]	Lösungs- oder Suspensionsmittel
dT(Ac)	O	95	Tetrahydrofuran
dT(Ac)	S	75	Tetrahydrofuran
dbz ⁶ A(Ac)	O	97	Tetrahydrofuran
dT-dT(Ac)	O	54	Tetrahydrofuran
dT-dan ⁴ C(Ac)	O	72	Diäthyläther mit 20 % Tetrahydrofuran
dbz ⁶ A-dT(Ac)	O	51	Diäthyläther mit 20 % Tetrahydrofuran
dan ⁴ C-dibu ² G(iBu) [3]	O	57	Diäthyläther mit 10 % Petroläther
dibu ² G-dibu ² G(iBu) [4]	O	63	Diäthyläther mit 40 % Petroläther

Die hier beschriebene Konzeption hat die folgenden Vorteile:

1. Oligodesoxyribonucleotide können allein ausgehend von den billigeren vier Desoxyribonucleosiden (1) synthetisiert werden.
2. Die für das 5'-Ende der Kette benötigten vier geschützten Desoxyribonucleoside (4) sind zugleich das Ausgangsmaterial für die zur Verlängerung der Ketten notwendigen 3'-O-acetylierten Desoxyribonucleosid-5'-phosphate (7).
3. Die bei den Kettensynthesen anfallenden geschützten Didesoxyribonucleosidmonophosphate (8) sind zugleich das Ausgangsmaterial für die Synthese der zur Verlängerung notwendigen 3'-O-acetylierten Didesoxyribonucleosiddiphosphate (11).
4. Die Verbindungen (4), (7), (8) und (11) sind schnell, in größeren Mengen und rein zu gewinnen.

Die Erweiterung dieser Konzeption auf die Darstellung von Trinucleosidtriphosphaten wird gegenwärtig untersucht.

3'-O-Acetyl-desoxyribonucleosid-5'-phosphate (7)

1 mmol (6) wird dreimal mit trockenem 2,6-Lutidin abgedampft, in 8 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 1.75 ml (15 mmol) 2,6-Lutidin und unter Rühren und Eiskühlung mit 0.138 ml (1.5 mmol) frisch destilliertem Phosphorsäurechlorid versetzt. Nach 15 min wird das Kühlfeld entfernt, nach weiteren 15 min hydrolysiert man die Reaktionsmischung mit 12 ml 0.2 M Triäthylammoniumacetatpuffer (pH=7), und nach 12 h Stehen wird mehrfach mit Wasser abgedampft. Das anorganische Phosphat wird nach den üblichen Methoden durch Fällung mit Bariumacetat entfernt (pH=7). Es folgt eine Adsorption an DEAE-Cellulose; Spuren unumgesetztes (6) werden mit 25 mM Triäthylammoniumacetat/40% Methanol ausgewaschen. (7) wird anschließend mit 150 mM Triäthylammoniumacetat/40% Methanol eluiert, eingedampft, durch Abdampfen mit Pyridin getrocknet und in Äther gefällt.

3'-O-Acetyl-didesoxyribonucleosiddiphosphate (11)

1 mmol (10) (2,6-Lutidiniumsalz) wird mit Hilfe mehrerer Glasperlen (Durchmesser 2–3 mm) durch kräftiges Schütteln in einer Mischung von 4 ml Suspensionsmittel (siehe

Tabelle 1) und 2.91 ml (25 mmol) 2,6-Lutidin suspendiert. Die Suspension wird auf -10°C abgekühlt, mit 0.23 ml (2.5 mmol) frisch destilliertem Phosphorsäurechlorid versetzt und 15 min kräftig geschüttelt. Nach einer Stunde wird mit 4 ml 0.3 M Triäthylammoniumacetatpuffer (pH=7) mindestens 12 h bei 0°C hydrolysiert. Es folgt eine Chromatographie an DEAE-Cellulose (Acetat-Form). Lutidin und unumgesetztes (10) werden mit 25 mM Triäthylammoniumacetat/40% Methanol entfernt. Zur Elution von (11) dient die Gradientenelution mit Triäthylammoniumacetat (linear von 25 auf 250 mM und von 250 auf 400 mM)/40% Methanol. Die (11) enthaltenden Fraktionen werden vereinigt, eingedampft, durch Abdampfen mit Pyridin getrocknet und in Äther gefällt.

Eingegangen am 15. August 1973 [Z 906]

[1] K. L. Agarwal, A. Yamazaki, P. J. Cashion u. H. G. Khorana, Angew. Chem. 84, 489 (1972); Angew. Chem. internat. Edit. 11, 451 (1972).

[2] Kurzformeln nach IUPAC-IUB Recommendations, Eur. J. Biochem. 15, 203 (1970).

[3] Von Herrn Dipl.-Chem. H. Blöcker dargestellt.

[4] Von Herrn Dipl.-Chem. S. Geusenhainer dargestellt.