

tal **6a** nachweisen. Durch Zusatz von Linolsäuremethylester zur Reaktionslösung konnte die Ausbeute an **6a** etwa um den Faktor 10 erhöht werden.

Diese Versuche zeigen, daß maskierte α -Hydroxyaldehyde unter sehr milden Bedingungen entstehen können, auch ohne Enzymbeteiligung. Man kann daher schließen, daß analoge Oxidationen an Plasmalogenen unter Bildung von maskierten α -Hydroxyaldehyden auch in vivo stattfinden könnten.

Experimentelles

2: Beispiel: $R' = C_6H_{17}$; DC (Cyclohexan:Essigester 1:2): $R_f = 0.14$ ($R = R' = R'' = H$); GC (OV 101): RI = 2186/2206 [$R = R' = R'' = Si(CH_3)_3$]; MS (70 eV): m/z 103 (100%), 73 (76), 219 (76), 147 (32), 129 (28), 279 (12), 259 (8), 205 (2) [$R = R' = R'' = Si(CH_3)_3$].

4: Ausbeute (Synthese): ca. 10%; DC (Cyclohexan: Essigester 10:1): $R_f = 0.88$; GC (OV 101): RI = 1553/1600 (*cis/trans*); MS (70 eV): m/z 57 (100%), 99 (44), 43 (40), 82 (26), 68 (14), 226 (M^+ , 5); 1H -NMR (500 MHz, C_6D_6): *cis*: $\delta = 0.78$ (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.20–1.40 (m, 16H), 1.38–1.46 (m, 2H), 2.35 (dq, $J = 7.3$, 1.4 Hz, 2H), 3.37 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 4.45 (dt, $J = 7.3$, 6.3 Hz, 1H), 5.85 (dt, $J = 6.3$, 1.4 Hz, 1H); *trans*: $\delta = 0.82$ (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 0.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.20–1.40 (m, 16H), 1.46–1.54 (m, 2H), 1.94 (dq, $J = 7.3$, 1.1 Hz, 2H), 3.40 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 4.83 (dt, $J = 12.6$, 7.3 Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H); ^{13}C -NMR (500 MHz, C_6D_6): *cis/trans*-Isomerengemisch (ca. 1:3): $\delta = 10.4$, 10.6, 14.3, 22.9, 23.1, 23.4, 24.6, 28.3, 29.5, 29.7, 29.8, 30.0, 30.0, 30.1, 30.4, 31.4, 32.3, 70.5, 73.5, 103.7, 106.8, 145.5, 147.0. Für die jeweiligen Reaktionen wurde ein *cis/trans*-Isomerengemisch eingesetzt.

5: Ausbeute (Synthese): 86%; DC (Cyclohexan: Essigester 4:1): $R_f = 0.47$; GC (OV 101): RI = 1943/2013 (*cis/trans*); MS (70 eV): m/z 159 (100%), 43 (87), 57 (44), 99 (23); 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): *cis*: $\delta = 0.88$ (t, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.21–1.56 (m, 12H), 2.0–2.06 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 3.84 (dd, $J = 0.7$, 5.3 Hz, 2H), 4.17 (dd, $J = 6.0$, 12.0 Hz, 1H), 4.34 (dd, $J = 3.9$, 12.0 Hz, 1H), 4.40 (dt, $J = 6.1$, 7.4 Hz, 1H), 5.19 (dt, $J = 5.4$, 6.1 Hz, 1H), 5.89 (dt, $J = 1.4$, 6.1 Hz, 1H); *trans*: $\delta = 0.88$ (t, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.21–1.38 (m, 12H), 1.86–1.94 (m, 2H), 2.1 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 3.78 (d, $J = 5.1$ Hz, 2H), 4.18 (dd, $J = 5.8$, 12.0 Hz, 1H), 4.43 (dd, $J = 3.9$, 12.0 Hz, 1H), 4.79 (dt, $J = 7.3$, 12.6 Hz, 1H), 5.20–5.28 (m, 1H), 6.21 (dt, $J = 2.7$, 12.6 Hz, 1H).

6a: Ausbeute (Payne-Epoxidierung von **4** in CH_3OH): 22%; DC (Cyclohexan:Essigester 10:1): $R_f = 0.23$; GC (OV 101): RI = 1835/1848; als TMS-Ether: RI = 1911/1924; MS (70 eV): m/z 103 (100%), 61 (94), 57 (32), 43 (32), 71 (20), 215 (4), 243 (2), 256 (0.5); als Trimethylsilyl (TMS)-Ether: m/z 103 (100%), 61 (93), 73 (21), 43 (16), 243 (3), 257 (2), 287 (1), 314 (0.5).

6b: DC (Cyclohexan:Essigester 10:1): $R_f = 0.23$; GC (OV 101): RI = 1888, als TMS-Ether: RI = 1940; MS (70 eV): m/z 117 (100%), 75 (97), 43 (14), 47 (13), als TMS-Ether: m/z 117 (100%), 75 (80), 73 (12), 257 (8), 301 (6), 243 (4), 315 (3), 345 (1).

7a: DC (Cyclohexan: Essigester 1:2): $R_f = 0.14$; GC (OV 101): als TMS-Ether: RI = 2190/2214; MS (70 eV): als TMS-Ether: m/z 219 (100%), 103 (82), 73 (70), 129 (32), 279 (16), 259 (11), 147 (10).

7d: Ausbeute (Payne-Epoxidierung von **5** in C_2H_5OH): 47%; DC (Cyclohexan:Essigester 1:2): $R_f = 0.16$; GC (OV 101): RI = 2063/2096, als TMS-Ether: RI = 2216/2236; MS (70 eV): m/z 103 (100%), 73 (76), 219 (66), 147 (32), 129 (28), 293 (12), 273 (8), 205 (2).

7e, 7f (im Gemisch): Ausbeute (Payne-Epoxidierung von **5** in C_2H_5OH): 31%; DC (Cyclohexan: Essigester 1:2): $R_f = 0.40$; GC (OV 101): RI = 2173/2198, als TMS-Ether: RI = 2261/2277; MS (70 eV): als TMS-Ether: m/z 189 (100%), 73 (63), 129 (55), 147 (8), 273 (7), 175 (6), 215 (5), 263 (9).

10: 1-*O*-(1,2-Epoxydecyl)glycerol-2,3-diacetat: Ausbeute (Payne-Epoxidierung von **5** in Aceton): 20% (GC); DC (Cyclohexan:Essigester 3:1): $R_f = 0.29$; GC (OV 101): RI = 2125/2135; MS (70 eV): m/z 43 (100%), 57 (77), 71 (58), 159 (36), 141 (34), 115 (20), 189 (6), 227 (2.5), 257 (0.5), 270 (0.3).

11: DC (Cyclohexan:Essigester 4:1): $R_f = 0.41$; GC (OV 101): RI (als TMS-Ether) = 1711; MS (70 eV): m/z 43 (100%), 57 (81), 41 (52), 55 (28), 71 (26), 169 (20), 85 (18), 95 (12), 183 (2); als TMS-Ether: m/z 103 (100%), 73 (74), 257 (60), 43 (22), 75 (20), 169 (12), 117 (6), 129 (5), 143 (4); 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 0.79$ –0.89 (m, 3H), 1.13–1.34 (m, 14H), 1.52–1.67 (m, 2H), 2.37 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.12 (s, 1H), 4.20 (s, 2H); ^{13}C -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 14.0$ (C12), 22.7, 23.7, 29.2, 29.2, 29.4, 29.5, 31.8 (C4–C11), 38.4 (C3), 68.0 (C1), 209.9 (C2).

Eingegangen am 30. Oktober 1991 [Z 4996]

CAS-Registry-Nummern:

2 (TMS-Ether, $R' = C_8H_{17}$), 139199-41-0; **2** (TMS-Ether, $R' = C_{14}H_{29}$), 139199-58-9; **2** (TMS-Ether, $R' = C_{16}H_{31}$), 139199-60-3; **2** (TMS-Ether, $R' = C_{16}H_{33}$), 139199-59-0; **4** (*cis*-Isomer), 139199-42-1; **4** (*trans*-Isomer), 139199-43-2; **5** (*cis*-Isomer), 128262-09-9; **5** (*trans*-Isomer), 128262-08-8; **6a**, 139199-45-4; **6a** (TMS-Ether), 139199-46-5; **6b**, 139199-47-6; **6b** (TMS-Ether), 139199-48-7; **7a**, 139199-49-8; **7b**, 139199-61-4; **7c**, 139199-62-5; **7d**, 136132-

48-4; **7d** (TMS-Ether), 139199-50-1; **7e**, 139199-51-2; **7e** (TMS-Ether), 139199-53-4; **7f**, 139199-52-3; **7f** (TMS-Ether), 139199-54-5; **10**, 139199-55-6; **11**, 139199-56-7; **11** (TMS-Ether), 139199-57-8.

- [1] D. Steinberg, S. Parthasarathy, T. F. Carew, J. C. Khoo, J. L. Witztum, *N. Engl. J. Med.* **1989**, 320, 915–924.
- [2] U. P. Steinbrecher, S. Parthasarathy, D. S. Leake, J. L. Witztum, D. Steinberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81, 3883–3887.
- [3] A. M. Fogelman, I. Shechter, J. Seager, M. Hokom, J. S. Child, P. A. Edwards, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, 77, 2214–2218; G. Jürgens, J. Lang, H. Esterbauer, *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, 875, 103–114; U. P. Steinbrecher, J. L. Witztum, S. Parthasarathy, D. Steinberg, *Arteriosclerosis (Dallas)* **1987**, 7, 135–143.
- [4] H. R. Warner, W. E. M. Lands, *J. Biol. Chem.* **1961**, 236, 2404–2409; L. A. Horrocks, S. Spanner, R. Mozzi, S. Chun Fu, R. A. D. Amato, S. Krakowka, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1978**, 100, 423–438; E. Yavin, S. Gatt, *Eur. J. Biochem.* **1972**, 25, 431–436 und 437–446.
- [5] W. N. Marmer, E. Nungesser, T. A. Foglia, *Lipids* **1986**, 21, 648–651; T. A. Foglia, E. Nungesser, W. N. Marmer, *ibid.* **1988**, 23, 430–434.
- [6] R. A. Zoeller, O. H. Morand, C. R. H. Raetz, *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 11590–11596; O. H. Morand, R. H. Zoeller, C. R. H. Raetz, *ibid.* **1988**, 263, 11597–11606.
- [7] J. E. Vance, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, 1045, 128–134.
- [8] A. Lutz, G. Spittler, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 563–567.
- [9] W. Knörr, Dissertation, Universität Bayreuth, **1989**.
- [10] A. Lutz, Dissertation, Universität Bayreuth, **1991**.
- [11] E. C. Bligh, W. J. Dyer, *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, 37, 911–917.
- [12] H. H. O. Schmid, W. J. Baumann, H. K. Mangold, *Biochim. Biophys. Acta* **1967**, 144, 344–354.
- [13] W. Knörr, G. Spittler, *J. Chromatogr.* **1990**, 526, 303–318.
- [14] J. Gigg, R. Gigg, *J. Chem. Soc. C* **1968**, 16–21.
- [15] G. B. Payne, *Tetrahedron Lett.* **1962**, 763–765.
- [16] R. E. Parker, N. S. Isaacs, *Chem. Rev.* **1959**, 59, 737–799.

Synthese octamerer Phosphodiester von [3,3-Bis(hydroxymethyl)cyclobutyl]adenin und -thymine sowie deren Hybridisierungseigenschaften**

Von Jean-Michel Henlin, Klaus Jaekel, Peter Moser, Hans Rink, Erich Spieser und Gerhard Baschang*

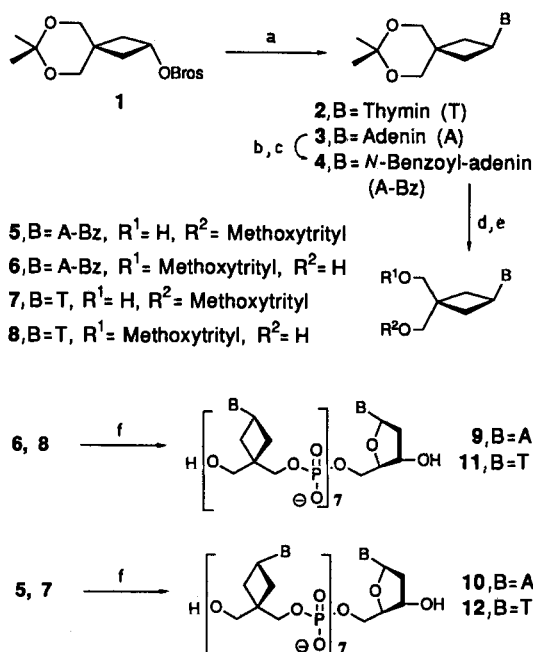
Zwei kürzlich erschienene Publikationen über künstliche Nucleoside^[1,2] veranlassen uns, die Ergebnisse eigener Arbeiten hierzu mitzuteilen. Mehrere Arbeitsgruppen konnten zeigen, daß der Ersatz von Desoxyribose in Nucleosiden durch Oxetane und Cyclobutane zu biologisch aktiven Verbindungen führt^[3]. Wir interessieren uns für oligomere Phosphodiester solcher artifizieller Nucleoside, insbesondere für ihre Fähigkeit, mit Ribo- und Desoxyribonucleinsäuren Doppelstränge zu bilden, d.h. zu hybridisieren. Neben der Komplementarität der Nucleinbasen kennt man kaum spezielle Bedingungen, die zwei sich paarende Stränge und insbesondere ihr Phosphodiester-Rückgrat erfüllen müssen. Wir berichten hier über Adenyl- und Thymine-Derivate von 1,1-Cyclobutandimethanol.

Ausgehend von 3-Benzoyloxy-1,1-cyclobutandimethanol^[4,5], das auf leicht modifiziertem Weg erhalten wurde, synthetisierten wir in drei Stufen das *O*-geschützte, sulfoniertere Derivat **1** (Schema 1). Direkte Einführung von Thymine mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in Dimethylsulfoxid (DMSO) bei 80 °C ergab 52% **2** neben 34% *N*¹,*N*³-disubstituiertem Produkt. Mit Adenin erhielt man unter gleichen Bedingungen nur **3** (90%). Schutz des Adeninrestes in **3** mit Benzoylchlorid zu **4** und dessen Monosubstitution mit Methoxytritylchlorid (MeOTrCl) lieferte nach chromatogra-

[*] Dr. G. Baschang, Dr. J. M. Henlin, H. Rink, E. Spieser
Division Pharma, Forschung und Entwicklung, Ciba-Geigy AG
CH-4002 Basel (Schweiz)

K. Jaekel, Dr. P. Moser
Forschungsdienste, Physikalische Methoden, Ciba-Geigy AG

[**] Wir danken den Herren Prof. H. Fritz, Drs. H. Fuhrer und E. Keller für NMR-Messungen, Dr. D. Müller für massenspektrometrische Bestimmungen und F. Ossola für Hilfe bei Experimenten.



Schema 1. Synthese von Cyclobutylcarbanucleosiden und ihren octameren Phosphodiestern. a) B (3 Äquiv.)/DBU (3 Äquiv.), DMSO, 24 h, 80 °C; B = A (90%), B = T (52%); b) PhCOCl/Pyridin (95%); c) NH₄OH/THF/H₂O; d) 2 M HCl/Dioxan dann Na₂CO₃ (70%); e) MeOTfCl/Pyridin (9% 6 + 27% 5) bzw. (35% 7 + 42% 8); f) Festphasensynthese [6, 7] (80–87% pro Kupplungsschritt).

phischer Trennung das *trans*-substituierte **5** und das *cis*-substituierte **6**. In der Thyminreihe erhielten wir das *trans*-Derivat **7** und das *cis*-Derivat **8**. Die Strukturen dieser Isomere wurden mit NOE-Experimenten zugeordnet. In **5** und **7** ergab Einstrahlung bei H_{1α} einen positiven Effekt auf H_{2α}, H_{4α} und auf die Methylenprotonen der substituierten Hydroxymethylgruppe, in **6** und **8** dagegen war der Effekt an der unsubstituierten Hydroxymethylgruppe zu beobachten. Die vier Verbindungen wurden nach der Phosphotriester-Methode an einer Festphase^[6, 7] zu octameren Phosphodiestern umgesetzt. Die thyminhaltigen Oligomere **11** und **12** enden mit Thymidin, während die adeninhaltigen Oligomere **9** und **10** Desoxyadenosin als letztes Nucleosid enthalten^[8].

Befunde zum Paarungsverhalten der neuen Oligonucleotide sowohl gegenüber Ribo- und Desoxyribonucleinsäuren als auch gegenüber den komplementären homologen Oligonucleotiden sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Abgesehen vom

Tabelle 1. Schmelztemperaturen T_m [°C] und Hyperchromie (in Klammern) octamerer Phosphodiester [a].

	Poly-rA	Poly-dA	Poly-rU	(dT) ₈	11	12
9	[b]	[b]	9 (16%)	28 (25%)	20 (28%)	9 (14%)
10	[b]	[b]	55 (42%)	22 (27%)	18 (28%)	12 (16%)
11	11 (23%)	27 (24%)	[b]			
12		10 (10%)		[b]		
Poly-rA				13 (35%)		

[a] Alle Experimente wurden in Phosphatpuffer pH = 7.0 und 1 M Natriumchlorid durchgeführt; in physiologischer NaCl-Lösung liegen die T_m -Werte etwa 10 °C tiefer. [b] Kein T_m -Wert bestimmbar.

hohen T_m -Wert^[9] der Addukte von **10** und Poly-rU (55 °C), der im Augenblick noch nicht erklärt werden kann, aber vielleicht eine Triplexbildung anzeigt, lassen sich drei abgestufte Wechselwirkungen zwischen komplementären Oligomeren feststellen. Dagegen zeigten Stränge mit nichtkomplementären Basen kein kooperatives Schmelzverhalten (siehe Tabelle 1, Fußnote [b]). Wie erwartet, liegen die T_m -Werte der Addukte der Cyclobutyloligomere mit den komplementären DNAs (27 °, 28 °C) höher als die T_m -Werte ihrer Hybride mit den weniger anpassungsfähigen RNAs (9 °C, 11 °C). Die pseudo- α -Oligomere **10** und **12** führen zu niedrigeren T_m -Werten als die pseudo- β -Oligomere **9** und **11**. Ebenso tief liegen die T_m -Werte der Hybride aus **9** und **12** (9 °C) bzw. **10** und **12** (12 °C). Das interessanteste Ergebnis ist jedoch die eindeutige Wechselwirkung zwischen den Cyclobutyl-A-Oligomeren **9** oder **10** und den Cyclobutyl-T-Oligomeren **11** oder **12** mit intermediären T_m -Werten von 18 °C und 20 °C. Folglich liegt hier nach dem von Eschenmoser gegebenen Beispiel^[10] ein weiteres künstliches Oligonucleotidsystem vor, das jedoch außer mit sich selbst auch mit natürlicher RNA und DNA Wechselwirkungen zeigt.

Eingegangen am 4. November 1991 [Z 5006]

CAS-Registry-Nummern:

1, 139130-99-7; **2**, 139131-00-3; **3** (*N*¹,*N*³-disubstituiert), 139131-09-2; **3**, 139131-61-4; **4**, 139131-02-5; **5**, 139131-03-6; **6**, 139131-04-7; **7**, 139131-05-8; **8**, 139131-06-9; **9**, 139131-07-0; **10**, 139238-73-6; **11**, 139131-08-1; **12**, 139238-74-7; Thymin, 65-71-4; Adenin, 73-24-5.

- [1] T. Maruyama, Y. Sato, T. Horii, H. Shiota, K. Nitta, T. Shirasaka, H. Mitsuya, M. Honjo, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 2719–2725.
- [2] H. Boumchita, M. Legraverend, C. Huel, E. Bisagni, *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 1815–1819.
- [3] a) S. Hayashi, D. W. Norbeck, W. Rosenbrook, M. Matsukura, J. J. Plattner, S. Broder, H. Mitsuya, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 287–294; b) D. W. Norbeck, E. Kern, S. Hayashi, W. Rosenbrook, H. Sham, T. Herrin, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1281–1285; c) N. Katagiri, H. Sato, C. Kaneko, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 288–290; d) Y. Wang, G. W. J. Fleet, R. Storer, P. L. Myers, C. J. Wallis, O. Doherty, *Tetrahedron Asym.* **1990**, *1*, 527–530; e) Y. Nishiyama, N. Yamamoto, Y. Yamada, T. Daikoku, Y. Ishikawa, K. Takahashi, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 1854–1859; f) Y. Ishikawa, A. Narita, A. Shiozawa, Y. Hayashi, K. Narasaka, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1919–1921; g) W. A. Slusarchyk, M. G. Young, G. S. Bisacchi, D. R. Hockstein, R. Zahler, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6453–6456; h) S. Saito, S. Hasegawa, K. Takahashi, N. Shimada, J. Seki, H. Hoshino, Y. Nishiyama, K. Matsubara, T. Nagahata (Nippon Kayaku Kabushiki Kaisha) EPA 0334250, 18. März 1989; Priorität: 23. März 1988, JP 67253/88; *Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 179712; i) D. W. Norbeck, J. B. Kramer, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7217–7218; j) W. A. Slusarchyk (E. R. Squibb & Sons), EPA 0352013, 13. Juli 1989; Priorität: 18. Juli 1988, US 220849; *Chem. Abstr.* **1990**, *113*, 40344y; k) S. Niitsuma, J. Ichikawa, K. Kato, T. Takita, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3967–3970 und 4713–4714; l) N. Shimada, S. Hasegawa, T. Harada, T. Tomisawa, A. Fujii, T. Takita, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1623–1925.
- [4] M. Avram, C. D. Nenitzescu, M. Maxim, *Chem. Ber.* **1957**, *90*, 1424–1432.
- [5] J. Safanda, P. Sobotka, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1982**, *47*, 2440–2447.
- [6] J. H. van Boom, G. A. van der Marcel, C. A. A. van Boeckel, G. Wille, C. F. Hoyng in *Chemical and Enzymatic Synthesis of Gene Fragments, A Laboratory Manual* (Hrsg.: H. G. Gassen, A. Lang), Verlag Chemie, Weinheim, **1982**.
- [7] Die Oligomere wurden über eine Ionenaustauschersäule „Mono QHR/5“, Pharmacia, 5 × 0.7 cm, mit einem 0.05–1 M NaCl-Gradienten in 10 M Triethylamin bei 1 bar gereinigt; Molekülmassen wurden massenspektrometrisch nach Elektrospray-Ionisation bestimmt.
- [8] Aus technischen Gründen wurde käufliches, mit Thymidin bzw. Desoxyadenosin beladenes Harz verwendet [3'-(5'-Methoxytrityl-N-benzoyl-desoxyadenosyl)-succinoyl-amidomethyl-polystyrol, vernetzt mit 1% Divinylbenzol]. Wir versprechen uns zusätzliche Auskunft über die störenden Einflüsse des endständigen, natürlichen Nucleotids aus dem Vergleich der T_m -Werte von pseudo- α - (**10**, **12**) und pseudo- β -Oligomeren (**9**, **11**).
- [9] T_m -Werte ergeben sich in erster Näherung als Wendepunkt der Funktion: UV-Absorption (λ_{max}) = $f(T)$.
- [10] A. Eschenmoser, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1991**, *39*, 795–807.