

Schema 4. Synthese des Fluviricin B1-Aglycons **8**, R = TBDMS. a) Siehe Text; b) TBDMSCl, 2,6-Lutidin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C; c) 1.5% Pd/C,  $\text{HCO}_2\text{NH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 4 kbar, Raumtemperatur, 2. PyBOP,  $(\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{N}_2\text{C}_2\text{H}_5$ , 4-Dimethylaminopyridin (DMAP),  $\text{PhCH}_3$ , 83 °C; d) LiOH,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 4 kbar, Raumtemperatur, dann DMSO, 120 °C; e) Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF), THF, 0 → 40 °C,  $\text{H}_2$  (1 atm), 10% Pd/C,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , Raumtemperatur; f) TBDMSCl, 2,6-Lutidin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C; g) LiOH, KCN,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , THF, Raumtemperatur; PhOP(O)Cl<sub>2</sub>,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$ , THF, 0 °C, dann PhSeH,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$ , THF, 0 °C; g)  $(\text{C}_4\text{H}_9)_3\text{SnH}$ , Azobisisobutyronitril (AIBN), Xylol, 175 °C.

Tabelle 1. Ausgewählte Daten wichtiger Verbindungen.

<b>8</b> (R = TBDMS): $[\alpha]_D^{25} + 12$ ( $c = 0.02$ , $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Schmp. 187–188 °C. IR (Film): $\tilde{\nu} = 3448, 1633, 1553, 1463, 1381 \text{ cm}^{-1}$ ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_6\text{D}_6$ ): $\delta = 4.38$ (dd, $J = 8.7, 3.0 \text{ Hz}$ , 1 H), 3.77 (dddd, $J = 23.7, 11.4, 2 \text{ Hz}$ , 1 H), 3.51 (m, 1 H), 2.44 (m, 1 H), 1.98–1.10 (m, 21 H), 1.04 (s, 9 H), 0.97 (d, $J = 7 \text{ Hz}$ , 3 H), 0.89 (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$ , 3 H), 0.82 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$ , 3 H), 0.13 (s, 3 H), 0.12 (s, 3 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_6\text{D}_6$ ): $\delta = 174.8, 73.1, 50.9, 42.9, 38.6, 34.8, 34.2, 31.5, 28.6, 27.0, 26.2, 25.9, 25.2, 24.4, 21.1, 20.9, 18.4, 12.5, 9.5, 8.1, 5.7, 4.7$ .
<b>10</b> : $[\alpha]_D^{25} 1.97$ ( $c = 1.59$ , $\text{CHCl}_3$ ). IR (Film): $\tilde{\nu} = 1780, 1730$ (breit), 1610, 1595, 1500, 1457 $\text{cm}^{-1}$ ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 8.43$ –7.30 (m, 5 H), 5.18 (s, 2 H), 3.53 (t, $J = 9.3 \text{ Hz}$ , 1 H), 2.48–2.32 (m, 2 H), 2.19–2.03 (m, 2 H), 1.75 (d, $J = 9.3 \text{ Hz}$ , 6 H), 1.95–1.50 (m, 2 H), 0.90 (t, $J = 12.2 \text{ Hz}$ , 3 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 175.5, 165.3, 136.1, 128.3, 128.3, 105.0, 66.4, 47.1, 46.1, 28.6, 26.8, 25.2, 24.1, 11.7$ .
<b>11</b> : $[\alpha]_D^{25} -10.5$ ( $c = 0.74$ , $\text{CHCl}_3$ ). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2096, 1650, 1480, 1380 \text{ cm}^{-1}$ ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 5.77$ (m, 1 H), 5.05 (m, 1 H), 3.39 (dd, $J = 7.1, 2.0 \text{ Hz}$ , 1 H), 3.27 (m, 2 H), 2.61 (dd, $J = 8.1, 2.2 \text{ Hz}$ , 1 H), 1.81 (dd, $J = 7.0, 1.8 \text{ Hz}$ , 3 H), 1.75–1.20 (m, 7 H), 0.95 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$ , 3 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 131.3, 128.3, 63.6, 53.9, 51.9, 42.6, 28.1, 27.0, 25.5, 13.5, 11.2$ .
<b>22a</b> : $[\alpha]_D^{25} + 13.3$ ( $c = 0.8$ , $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3528, 2099, 1770, 1737, 1456 \text{ cm}^{-1}$ ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 7.35$ (m, 5 H), 5.68–5.48 (m, 2 H), 5.10 (s, 2 H), 4.10 (bs, 1 H), 3.25 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$ , 2 H), 2.80 (m, 1 H), 1.90 (m, 2 H), 1.70 (s, 3 H), 1.63 (s, 3 H), 1.62–1.12 (m, 12 H), 1.10 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$ , 3 H), 0.88 (t, $J = 7 \text{ Hz}$ , 3 H), 0.83 (t, $J = 7 \text{ Hz}$ , 3 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 175.2, 169.0, 168.2, 136.5, 135.3, 131.2, 129.1, 128.8, 120.8, 106.3, 74.1, 66.8, 58.7, 52.3, 47.3, 47.2, 45.6, 33.6, 31.4, 29.6, 28.2, 27.5, 27.0, 25.2, 22.7, 17.6$ .
<b>23</b> : $[\alpha]_D^{25} + 32$ ( $c = 0.5$ , $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Schmp. 139 °C. IR (Film): $\tilde{\nu} = 1783, 1735, 1671 \text{ cm}^{-1}$ ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 5.52$ (dd, $J = 16.8, 10 \text{ Hz}$ , 1 H), 5.32 (dd, $J = 16.8, 10 \text{ Hz}$ , 1 H), 5.30 (m, 1 H), 3.88 (m, 1 H), 3.77 (t, $J = 9.6 \text{ Hz}$ , 2 H), 2.93 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 2.1 (dt, $J = 14, 4.8 \text{ Hz}$ ), 1.72 (s, 3 H), 1.75 (s, 3 H), 1.40 (d, $J = 7 \text{ Hz}$ , 3 H), 0.85 (s, 9 H), 0.80 (m, 6 H), 0.0 (s, 3 H), $-0.06$ (s, 3 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta = 176.3, 172.6, 168.8, 139.9, 133.5, 108.1, 59.9, 52.8, 50.5, 46.7, 40.8, 38.3, 33.1, 31.4, 31.2, 29.1, 28.5, 27.9, 26.9, 21.6, 20.2, 19.5, 14.2, 10.4, -1.3, -2.7$ .

Schwierig erwiesen sich sowohl die Hydrolyse und die Decarboxylierung des Meldrumsäureteils als auch die Hydrierung der Doppelbindung. Der Syntheseweg ermöglicht aber auch den Zugang zu Analoga. Diese konvergente Strategie, bei der zwei Bausteine durch eine palladiumkatalysierte Alkylierung und eine Amidbildung verbunden werden, könnte sich allgemein als nützlich erweisen.

Eingegangen am 21. Januar 1997 [Z 10013]

**Stichworte:** Allylische Alkylierungen · Asymmetrische Synthesen · Chiralitätsübertragung · Makrolactamisierung · Palladium

- [1] B. M. Trost, G. A. Molander, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5969; J. Tsuji, H. Kataoka, Y. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2575.
- [2] B. M. Trost, T. S. Scanlan, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4988; A. S. Kende, I. Kaldor, R. Aslanian, *ibid.* **1988**, *110*, 6265; B. M. Trost, J. T. Hane, P. Metz, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 5695.
- [3] B. M. Trost, R. W. Warner, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5940.
- [4] Suzuki, Y. Oda, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1623.
- [5] N. Naruse, T. Tsuno, Y. Sawada, M. Konishi, T. Oki, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 741; N. Naruse, M. Konishi, T. Oki *ibid.* **1991**, *44*, 756; R. V. Hegde, M. G. Patel, V. P. Gallo, M. S. Puar, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 810; R. V. Hegde, M. G. Patel, V. P. Gallo, M. S. Puar, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6403.
- [6] Erste Synthese: A. F. Houry, Z. Xu, D. A. Cogan, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2943; Z. Xu, C. W. Johannes, S. S. Salzman, A. H. Hoveyda *ibid.* **1996**, *118*, 10926.
- [7] Diese Verbindung wurde spektroskopisch und elementaranalytisch oder durch hochauflösende Massenspektrometrie charakterisiert.
- [8] G. Cardillo, A. D'Amico, M. Orena, S. Sandri, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2354.
- [9] X. Huang, L. Xie, *Synth. Commun.* **1986**, *16*, 1701. Übersichtsartikel: L. F. Tietze, U. Beifuss in *Comprehensive Organic Synthesis* (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming, C. H. Heathcock) Pergamon, Oxford, **1991**, Kapitel 1.11, S. 341–394.
- [10] J. Gao, M. R. Hanson, M. J. Klunder, Y. S. Ko, H. Masamune, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5765.
- [11] B. M. Trost, T. R. Verhoeven, *Tetrahedron* **1977**, *33*, 2615; B. M. Trost, T. P. Klun, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6756.
- [12] Siehe A. G. M. Barrett, N. S. Mani, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 6133; T. G. C. Selve, J. J. Delpuech, *ibid.* **1983**, *24*, 1609; A. F. Spatola, M. K. Anwer, *Synth. Commun.* **1980**, 929; S. Ram, R. E. Ehrenkauf, *Synthesis* **1988**, 91.
- [13] M. Yamaguchi, J. Inanaga, K. Hirata, H. Saeiki, T. Katsuki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 1989.
- [14] J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2437.
- [15] Durchgeführt von Helena Hagelin in unserem Labor.
- [16] D. H. R. Barton, D. Crich, W. B. Motherwell, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3901.
- [17] J. Pfenniger, G. Heuberger, W. Graf, *Helv. Chim. Acta* **1980**, *63*, 2328.

## Eine kurze Festphasensynthese für cyclische Oligodesoxyribonucleotide\*\*

ElMostafa Alazzouzi, Nuria Escaja, Anna Grandas und Enrique Pedrosa\*

Nuclease-resistente Oligonucleotide haben wegen ihres möglichen Einsatzes als Antisense- oder Gentherapeutica große Aufmerksamkeit auf sich gezogen.<sup>[1]</sup> So werden cyclische Oligonucleotide (CONs) durch die aktivsten Nucleasen, die Exonucleasen, nicht abgebaut. Sie können als effiziente Template die-

\* Prof. Dr. E. Pedrosa, E. Alazzouzi, N. Escaja, Prof. Dr. A. Grandas  
Departament de Química Orgànica  
Facultat de Química  
Universitat de Barcelona  
Martí i Franquès 1–11, E-08028 Barcelona (Spanien)  
Telefax: Int. + 3/3397878  
E-mail: pedrosa@mafalda.qui.ub.es

\*\* Diese Arbeit wurde von der DGICYT (PB91-270 und PB 94-844) und der Generalitat de Catalunya (Centre de Referència de Biotecnologia und GRQ93-1094) unterstützt.

nen, so daß mit DNA- und T7-RNA-Polymerasen nach dem Rolling-circle-Mechanismus multimere Kopien ihrer Sequenzen erhalten werden.<sup>[2]</sup> Darüber hinaus sind sie hervorragende Modellverbindungen bei der Untersuchung von Nucleinsäurestrukturen.<sup>[3]</sup> Einige CON-Sequenzen weisen zudem interessante biologische Eigenschaften auf.<sup>[4]</sup>

Die Herstellung cyclischer Oligonucleotide ist eine Herausforderung für jeden, der sich mit der Synthese von Makrocyclen befaßt, da jede Nucleotideinheit sechs Atome zum cyclischen Rückgrat der Verbindung beisteuert. Wegen der Konkurrenz zwischen intra- und intermolekularen Reaktionen, konnten bislang nur relativ kurze Sequenzen (Dimer bis Octamer) über die chemische Verknüpfung partiell geschützter Oligonucleotide in verdünnten Lösungen cyclisiert werden.<sup>[5]</sup> Größere Cyclen (24mer oder größer) konnten nur durch templatgesteuerte chemische oder enzymatische Cyclisierung nicht geschützter Oligonucleotide erhalten werden.<sup>[6]</sup> Das Templat kann entweder das Segment eines CON sein wie bei der Verknüpfung gefalteter, hantelförmiger Stränge<sup>[6a]</sup> oder ein zweites Oligonucleotid, das mit dem linearen Vorläufer des CON ein Duplex<sup>[6b]</sup> oder Triplex<sup>[6c]</sup> bildet. Die Hauptnachteile dieser templatgesteuerten Verfahren<sup>[6a, c]</sup> sind, daß die Sequenzen der zur Verfügung stehenden CONs beschränkt sind und eine untere Grenze für deren Größe dadurch besteht, daß die Möglichkeit zur effizienten Hybridisierung und geeigneten Basenpaarung mit dem komplementären Strang gegeben sein muß.

Die Vorteile einer automatisierten Festphasensynthese sind für die Herstellung von CONs noch nicht vollständig genutzt worden. Unseres Wissens konnte erst eine Arbeitsgruppe mit dieser Methode CONs herstellen,<sup>[7]</sup> wobei die exocyclische Aminogruppe von Cytosin an den Träger gebunden wurde, an dem man Kettenverlängerung und Cyclisierung durchführte. Die längste auf diese Weise hergestellte Sequenz, die naturgemäß mindestens einen Cytosinrest enthält, ist ein Hexadecamer (1% Ausbeute) – ein Beleg dafür, wie schwierig diese Synthese durchzuführen ist.

Wir beschreiben hier eine Festphasensynthese, die die einfache Herstellung kleiner bis mittelgroßer cyclischer Oligodesoxyribonucleotide (CONs) ohne Einschränkungen bezüglich der Sequenz ermöglicht. Das Verfahren nutzt zwei Hauptcharakteristika der Festphasensynthese: die Pseudo-Verdünnungsbedingungen bei der Cyclisierung<sup>[8]</sup> und das leichte Entfernen von Nebenprodukten durch Filtrieren.

Zu Beginn der Synthese wurde das Nucleotid am 3'-Ende über den neuen bifunktionellen Linker 3-Chlor-4-hydroxyphenylsigsäure **1** (Abb. 1) an die Festphase gebunden. Um ein homogen derivatisiertes Harz zu erhalten, wurde das Nucleotid zunächst an den Linker gebunden und das Produkt anschließend mit der Matrix verknüpft. So entstand der Nucleotid-Linker **3** (B = T, C<sup>Bz</sup>, A<sup>Bz</sup>, G<sup>iBu</sup>) durch Umsetzung des 2,4,5-Trichlorphenylesters von **2** mit einem Nucleosidphosphoramidit in Gegenwart von Tetrazol und anschließende Oxidation. Als Harz wurde entweder ein Copolymer aus Aminomethylpolystyrol und 1% Divinylbenzol oder aus Polyethylenglycol und Polystyrol (TentaGel-NH<sub>2</sub>-Harz) verwendet. Um die Flexibilität der Oligonucleotidkette zu erhöhen und die Cyclisierungs- und Spaltungsreaktionen zu erleichtern, kann zusätzlich 6-Aminohexansäure als Spacer eingeführt werden. Die Kupplung von **3** an das aminomodifizierte Harz lieferte das Nucleotid-Harz **4**, dessen Reinheit durch Gelphasen-<sup>31</sup>P-NMR-Spektroskopie überprüft wurde.<sup>[9]</sup> Aus dem Harz **4** wurde nach der Standard-Phosphorriester-Methode mit 2-Cyanethyl(CNE)- oder -methyl-5'-DMT-nucleosid-phosphoramidit das Oligonucleotid **5** aufgebaut (DMT = Dimethoxytriphenylmethyl). Nach Abspaltung der 5'-OH- und der 3'-Phosphat-Schutzgruppen (sofern letztere

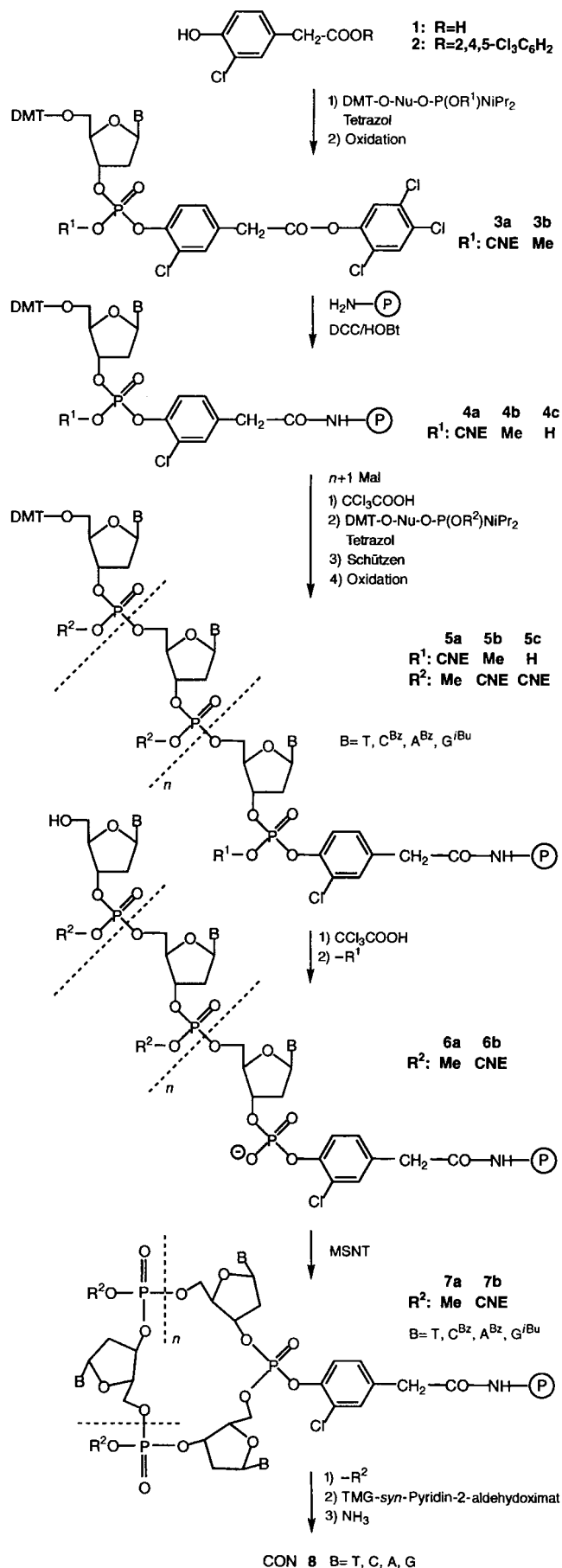


Abb. 1. Synthese cyclischer Oligodesoxyribonucleotide.

nicht schon vorher entfernt wurden) konnte das teilweise geschützte Oligonucleotid **6** am Harz cyclisiert werden. Durch Entfernen aller Schutzgruppen und Freisetzen von **7** wurde das CON **8** erhalten.

Die Synthese hängt von der richtigen Wahl dreier Phosphat-schutzgruppen ab. Über eine *o*-Chlorphenylgruppe wurde die 3'-terminale Phosphatgruppe während der gesamten Synthese geschützt und das Oligonucleotid am Harz verankert. Diese 3'-Phosphatgruppe wurde darüber hinaus durch die R<sup>1</sup>-Gruppe maskiert, die selektiv vor der regioselektiven Cyclisierung entfernt werden muß. Die übrigen Phosphatgruppen der Oligonucleotidkette wurden während der gesamten Synthese durch die R<sup>2</sup>-Gruppe geschützt. Unterschiedliche Kombinationen aus R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> wurden erprobt und lieferten ähnliche Ergebnisse. Entweder wurde für R<sup>1</sup> die CNE-Gruppe verwendet (**4a**) und die Verlängerung zu **5a** mit Methylamiditen durchgeführt, oder man begann die Synthese mit **4b** (R<sup>1</sup> = Me) und nutzte CNE-Amidite zum Aufbau von **5b**. Versuche mit Modellverbindungen ergaben allerdings, daß keine dieser Strategien vollständig orthogonal ist, weil die R<sup>2</sup>-Gruppen unter den Bedingungen der Abspaltung von R<sup>1</sup> bei **5a** oder **5b** ebenfalls teilweise entfernt werden. Bei einer alternativen Strategie wurde die CNE-Gruppe vom Nucleotid-Harz **4a** abgespalten (**4c**) und die Kettenverlängerung zu **5c** mit CNE-Phosphoramiditen durchgeführt. Die UV-spektroskopische Untersuchung der DMT-Kationen, die durch Abspaltung der Schutzgruppen gebildet werden, ergab, daß die Kettenverlängerung normal verläuft – unabhängig von der Schutzgruppenstrategie (mittlere Kupplungsausbeute ca. 98 %).

Die Cyclisierung des partiell geschützten Oligonucleotids **6** wurde mit 1-Mesitylsulfonyl-3-nitro-1,2,4-triazol (MSNT) erzielt (0.1 M in Pyridin, 12–24 h). Anschließend wurden die Phosphatschutzgruppen von **7** abgespalten (Thiophenol/Triethylamin für R<sup>2</sup> = Me oder Triethylamin/Pyridin für R<sup>2</sup> = CNE), das Harz mit Tetramethylguanidinium-*syn*-pyridin-2-aldehydoximat (0.1 M in Dioxan/Wasser, mindestens 8 h) freigesetzt und die Nucleobasen-Schutzgruppen mit konzentriertem Ammoniak entfernt. Nach Gelfiltration mit Sephadex G-10 oder G-25 wurden die rohen CONs **8** gemäß Standardverfahren analysiert, gereinigt und charakterisiert. Die Sequenzen einiger CONs (Dimer bis zu einem 32mer) sind im folgenden dargestellt.

d<pTT>; d<pGG>; d<pAG>; d<pTTT>; d<pTTTT>  
d<pTCATTCAT>; d<p<sup>Br</sup>UCAT<sup>Br</sup>UCAT>  
d<pTCATATCTATAT>; d<pACGCTATGCGAT>  
d<pTTTCTTGCTTGATTTA>; d<pTTCACATTTTCACATT>  
d<pAGGTGCTGATGGTTGGAT>  
d<pTGTCGTTGCGCTTGAGTTCTACT>  
d<pTCGTCGCTTGCGCCGTTGAGCTTGCTACGT>

Die Ausbeuten an Rohprodukt hängen von der Kettenlänge der CONs ab und reichen von 40–50 % bei den kleinen Molekülen (bis zu den Octameren) bis zu 4 % bei den 32meren. Allgemein wurden die höchsten Ausbeuten mit der TentaGel-Matrix, dem Nucleotid-Harz **4c** und CNE-Phosphoramiditen erzielt. Alle HPLC-Elutionsdiagramme dieser Rohprodukte weisen einen Hauptpeak auf, der typischerweise mehr als 80–90 % der integrierten Gesamtfläche umfaßt und nur von einigen kleinen Verunreinigungen begleitet wird. Diese hohe Reinheit ist darauf zurückzuführen, daß zwar die Phosphotriester-gebundenen cyclischen Moleküle leicht bei der Umsetzung mit dem Oximat abgespalten werden, nicht aber die nichtcyclisierten Ketten, die

über eine Phosphodiesterbindung an das Harz gebunden sind. Darüber hinaus verbleiben auch die geschützten, unvollständigen Sequenzen und die polymeren Produkte an der Festphase, die durch Reaktionen zwischen den Ketten während der Cyclisierung entstehen. So können die mit dem Harz verknüpften Hauptverunreinigungen durch Filtration nach der Umsetzung mit dem Oximat abgetrennt werden.

Die Homogenität des Rohprodukts kann mit den genannten Argumenten erklärt werden, die zudem dafür sprechen, daß die isolierten Oligonucleotide (Hauptpeaks) tatsächlich cyclisch sind. Die Strukturen wurden durch die Ergebnisse des enzymatischen Abbaus bestätigt: Beim vollständigen Abbau mit der Schlangengift-Phosphodiesterase und der alkalischen Phosphatase entstanden die Nucleoside im erwarteten Mengenverhältnis. Darüber hinaus wurden die CONs mit abnehmender Molekülgröße zunehmend schwerer von der Kalbsmilz-Phosphodiesterase abgebaut; eine Spaltung der kleinsten Nucleotide (bis zu den 12meren) unterblieb vollständig.<sup>[10]</sup> Massenspektrometrische Untersuchungen (Negativ-Ionen-Elektrospray- oder MALDI-TOF-MS oder beides) ergaben die erwarteten Massen für die CONs.

Mit dieser einfachen Methode werden nicht nur weitgehend reine Produkte erhalten, sondern kleine Cyclen auf effizientere Weise als es mit templatgesteuerten Synthesen möglich ist. Zudem ist dieses Verfahren viel einfacher in größerem Maßstab durchführbar, und tatsächlich wurden einige Produkte für biologische Studien und Strukturuntersuchungen in Milligramm-Mengen synthetisiert.

### Experimentelles

**2:** 4 g **1**, gelöst in 130 mL AcOEt wurden langsam zu einer Lösung von 4.7 g 2,4,5-Trichlorphenol und 4.9 g Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in 22 mL Dichlormethan gegeben und 14 h gerührt. Das Filtrat wurde mit wäßriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Öl wurde an Kieselgel mit Hexan und steigenden Anteilen an Dichlormethan chromatographiert. Nach Fällung mit Hexan wurden 2.8 g **2** (34 %) isoliert: Schmp. 78 °C; <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.53, 7.26 (Cl<sub>3</sub>Ar), 7.35 (d), 7.20 (dd), 7.03 (d, ClAr), 5.60 (OH), 3.82 (CH<sub>2</sub>); EI-MS: *m/z*: 366.

**Nucleotid-Linker 3:** Eine Lösung von 0.23 mmol Tetrazol in 0.7 mL wasserfreiem Acetonitril wurde mit 0.23 mmol 5'-O-DMT-Nucleosid-phosphoramidit und 0.21 mmol **2** in 1.7 mL Dichlormethan eine Stunde unter Argon gerührt. 0.24 mL *t*BuOOH (3 M in Toluol) wurden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde nach 10 min mit Dichlormethan verdünnt und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und eingedunstet. Nach der Fällung mit Hexan wurden die Produkte isoliert (weißer Schaum, 65–75 %) und ohne weitere Reinigung verwendet; <sup>31</sup>P-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = ca. –7.8 (**3a**), ca. –10.5 (**3b**).

**Nucleotid-Harz 4:** Das aminomodierte Harz (ca. 1 mmol NH<sub>2</sub>-Gruppen) wurde 2 h mit *N*-Fmoc-6-Aminohexansäure, 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) und DCC (je 0.25 Äquiv. für Polystyrol und 1 Äquiv. für TentaGel) in einer Mischung aus Dichlormethan/DMF (7/1) umgesetzt. Die nicht umgesetzten Aminogruppen wurden acetyliert und die Fmoc-Gruppe mit 50 % Piperidin in DMF entfernt. 200 mg dieses Harzes wurden 2 h mit **3**, DCC und HOBt (je 1–2 Äquiv. bezogen auf die Aminogruppen) in 2 mL Dichlormethan/DMF (4/1) umgesetzt. Es wurden Harze mit einem Substitutionsgrad von 50–120 µmol DMT g<sup>–1</sup> erhalten. Die noch freien Aminogruppen wurden vor der Kettenverlängerung acetyliert.

Eingegangen am 3. Dezember 1996,  
veränderte Fassung am 18. Februar 1997 [Z9848]

**Stichworte:** Antisense-Agentien • Festphasensynthesen • Makrocyclen • Oligonucleotide • Schutzgruppen

[1] E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 543–584.

[2] A. Fire, S.-Q. Xu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 4641–4645; S. L. Daubendiek, K. Ryan, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 7818–7819; D. Liu, S. L. Daubendiek, M. A. Zillman, K. Ryan, E. T. Kool, *ibid.* **1996**, 118, 1587–1594.

[3] A. F. Markham, E. Nakagawa, E. Ohtsuka, M. Ikehara, *Biopolymers* **1980**, 19, 285–296; D. E. Wemmer, A. S. Benight, *Nucleic Acids Res.* **1985**, 13, 8611–8621; M. M. W. Mooren, S. S. Wijmenga, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, C. W. Hilbers, *ibid.* **1994**, 22, 2658–2666; C. A. Frederick, M. Coll, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, A. H. J. Wang, *Biochemistry* **1988**, 27,

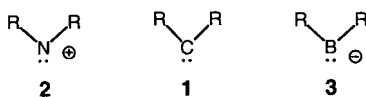
- 8350–8361; J. H. Ippel, V. Lanzotti, A. Galeone, L. Mayol, J. E. van den Boogaart, J. A. Pikkemaat, C. Altona, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1992**, *9*, 821–836; siehe auch Lit. [6a] und Lit. [6c].
- [4] C.-Y. L. Hsu, D. Dennis, *Nucleic Acids Res.* **1982**, *10*, 5637–5647; C. Clusel, E. Ugarte, N. Enjolras, M. Vasseur, M. Blumenfeld, *ibid.* **1993**, *21*, 3405–3411; P. Ross, H. Weinhouse, Y. Aloni, D. Michaeli, P. Weinberger-Ohana, R. Mayer, S. Braun, E. de Vroom, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, M. Ben-Ziman, *Nature* **1987**, *325*, 279–281.
- [5] C.-Y. L. Hsu, D. Dennis, R. A. Jones, *Nucleosides & Nucleotides* **1985**, *4*, 377–389; E. de Vroom, H. J. G. Broxterman, L. A. J. M. Sliedregt, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 4607–4620; M. V. Rao, C. B. Reese, *ibid.* **1989**, *17*, 8221–8239; M. L. Capobianco, A. Carcuro, L. Tondelli, A. Garbesi, G. M. Bonora, *ibid.* **1990**, *18*, 2661–2669.
- [6] a) D. Erie, R. A. Jones, W. K. Olson, N. K. Sinha, K. Breslauer, *Biochemistry* **1989**, *28*, 268–273; G. W. Ashley, D. M. Kushlan, *ibid.* **1991**, *30*, 2927–2933; H. Gao, N. Chidambaram, B. C. Chen, D. E. Pelham, R. Patel, M. Yang, L. Zhou, A. Cook, J. S. Cohen, *Bioconjugate Chem.* **1994**, *5*, 445–453, zit. Lit.; b) N. G. Dolinnaya, M. Blumenfeld, I. N. Merenkova, T. S. Oretskaya, N. F. Krynetskaya, M. G. Ivanovskaya, M. Vasseur, Z. A. Shabarova, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 5403–5407; c) S. Wang, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8857–8858; S. Rumney IV, E. T. Kool, *ibid.* **1995**, *117*, 5635–5646, zit. Lit.
- [7] M. R. Conte, L. Mayol, D. Montesarchio, G. Piccialli, C. Santacroce, *Nucleosides & Nucleotides* **1993**, *12*, 351–358; L. De Napoli, A. Galeone, L. Mayol, A. Messere, G. Piccialli, C. Santacroce, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1993**, 747–749, zit. Lit.
- [8] S. Mazur, P. Jayalekshmy, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 677–683.
- [9] F. Bardella, R. Eritja, E. Pedroso, E. Giralt, *Biomed. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 2793–2796.
- [10] Wir danken einem der Gutachter für die Anregung, daß ein aussagekräftiger enzymatischer Test für den Ringschluß des Moleküls darin besteht, einen Partialabbau der CONs mit einer Endonuclease durchzuführen, da aus einem cyclischen Produkt lineare Oligonucleotide einheitlicher Länge entstehen [6c].

## Durch benachbarte B-B-Bindungen stabilisierte Carben-Analoga von Bor: doppelaromatische Bishomotriboriranide\*\*

Markus Unverzagt, Govindan Subramanian, Matthias Hofmann, Paul von Ragué Schleyer, Stefan Berger, Klaus Harms, Werner Massa und Armin Berndt\*

Professor Walter Siebert zum 60. Geburtstag gewidmet

Carbene **1** und deren Stickstoffanaloge, die Nitrenium-Ionen **2** (Schema 1), wurden durch Kristallstrukturanalysen charakterisiert.<sup>[1,2]</sup> Carben-Analoga von Bor, die Borenat-Ionen<sup>[3]</sup> **3**,



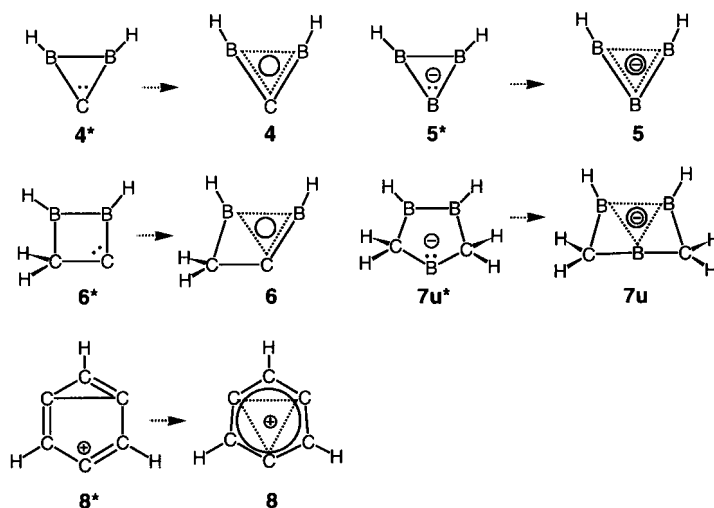
Schema 1. Carbene **1**, Nitrenium-Ionen **2** und Borenat-Ionen **3**.

[\*] Prof. Dr. A. Berndt, M. Unverzagt, Prof. Dr. S. Berger, Dr. K. Harms, Prof. Dr. W. Massa  
Fachbereich Chemie der Universität  
D-35032 Marburg  
Telefax: Int. + 6421/288917  
E-mail: berndt@ps1515.chemie.uni-marburg.de  
Dr. G. Subramanian, Dr. M. Hofmann, Prof. Dr. P. von R. Schleyer  
Computer-Chemie-Centrum des Instituts für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. G. S. dankt der Alexander-von-Humboldt-Stiftung für ein Postdoktorandenstipendium.

wurden dagegen bisher nur in der Gasphase nachgewiesen<sup>[4]</sup> und theoretisch untersucht.<sup>[4,5]</sup> Mit dem Bor-Anion **7a** (siehe Schema 4) wird hier die Reihe der isoelektronischen Prototypen **1–3** durch ein erstes Derivat von **3** ergänzt. Doppelaromatizität,<sup>[6]</sup> für die Stammverbindung **7u** durch Rechnungen belegt, ist der Schlüssel zum Verständnis der elektronischen Struktur von **7a,u** und verwandten Verbindungen (der Buchstabe **u** wird für die Stammverbindung einer Verbindungsklasse verwendet).

Gestützt auf ab-initio-Rechnungen und NBO-Analysen<sup>[7]</sup> haben wir die elektronische Struktur des Carbens **4**<sup>[8]</sup> und des Borenat-Ions **5**<sup>[9]</sup> wie folgt erklärt:<sup>[10]</sup> In den klassischen Darstellungen **4\*** und **5\*** bevorzugt das Elektronenpaar das p-Orbital des Carben- bzw. Borenat-Zentrums vor dem Hybrid-Orbital in der Molekülebene, weil es bei dieser „inversen“ Besetzung mit den leeren p-Orbitalen der benachbarten B-B-Einheit eine Drei-Zentren-zwei-Elektronen(3c,2e)- $\pi$ -Bindung bilden kann und das leere Hybrid-Orbital mit der B-B- $\sigma$ -Bindung zusätzlich eine 3c,2e- $\sigma$ -Bindung (Schema 2).<sup>[11]</sup>



Schema 2. Elektronische Struktur von doppelaromatischen Verbindungen gemäß theoretischer Untersuchungen. Ein Stern kennzeichnet formale Lewis-Darstellungen ohne  $\pi$ - und  $\sigma$ -Delokalisierung, ein gestrichelt dargestelltes Dreieck eine 3c,2e- $\sigma$ -Bindung, ein durchgezogener Kreis eine 3c,2e- $\pi$ -Bindung bei **4–7** und eine 6c,6e- $\pi$ -Bindung bei **8**.

Moleküle mit zwei zueinander orthogonalen Systemen von  $(4n+2)$ -Elektronen in cyclischer Konjugation wurden erstmals am Beispiel des 3,5-Dehydrophenyl-Kations **8** diskutiert und als doppelaromatisch bezeichnet.<sup>[6]</sup> Derivate von **6**, der Monohomoform von **4**, sind bekannt.<sup>[8,10]</sup> Das hier beschriebene **7a** ist ein Derivat von **7u**, der Bishomoform von **5**.

Eine NBO-Analyse<sup>[7]</sup> rechtfertigt die Beschreibung von **7u** mit je einer BBB-3c,2e- $\sigma$ - und - $\pi$ -Bindung. Es kann somit, wie **4–6** und das 3,5-Dehydrophenyl-Kation **8**,<sup>[6]</sup> zur Klasse der doppelaromatischen Verbindungen gezählt werden. Die Aromatizität von **7u** äußert sich in einer starken Anisotropie der magnetischen Suszeptibilität ( $-30.3$  ppmcgs) und einer deutlichen diamagnetischen Erhöhung der Suszeptibilität ( $-18.7$  ppmcgs gemäß Gleichung (1), CSGT-SCF/6-31+G\*\*//MP2(FU)/6-31G\*). Die Stabilisierung (MP2(FU)/6-31G\* + 0.94 ZPE) von **7u** durch Bildung der 3c,2e-Bindungen kann über Gleichung (1) zu  $92 \text{ kcal mol}^{-1}$  abgeschätzt werden.<sup>[12]</sup> Für ein in der Geometrie von **10u** willkürlich fixiertes und damit klassisches Borenat errechnet man eine gegenüber **7u** um  $90 \text{ kcal mol}^{-1}$  höhere Energie. Die über Gleichung (2) berechnete Stabilisierungsenergie für **6** beträgt  $93.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ . **7u** und **6** sind danach ähnlich stark stabilisiert wie der Prototyp **1a** der Arduengo-Carbene [Gl. (3)].<sup>[13]</sup>