

# Synthese des tRNA-Nucleosids Queuosin unter Verwendung eines chiralen Allylazid-Intermediats\*\*

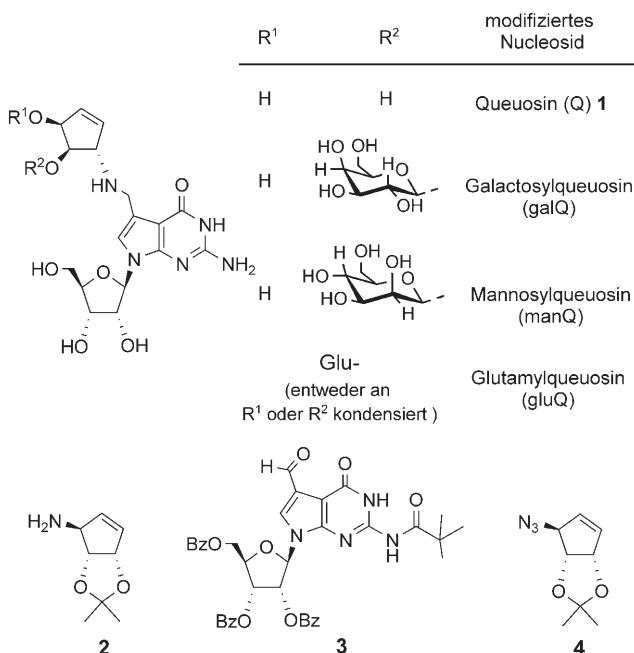
Florian Klepper, Eva-Maria Jahn, Volker Hickmann und Thomas Carell\*

Transfer-RNAs (tRNAs) sind Schlüsselmoleküle für den Prozess der Dekodierung genetischer Information im Ribosom.<sup>[1]</sup> Sie enthalten die vier kanonischen RNA-Basen und eine große Zahl an modifizierten Nucleotiden, deren Funktion im Prozess der tRNA-Beladung und -Dekodierung größtenteils unbekannt ist.<sup>[2]</sup> Queuosin (Q) **1**<sup>[3]</sup> und seine galactosylierten, mannosylierten und Aminosäure-modifizierten Derivate<sup>[4]</sup> (Schema 1) sind wichtige hypermodifizierte RNA-Basen, die in der Antikodonschleife verschiedener tRNAs vorliegen. Es wird derzeit vermutet, dass sie für die

Feinregulierung des Translationsprozesses benötigt werden.<sup>[5]</sup> Will man die Aufgabe der hypermodifizierten Basen bei der Translation besser verstehen und ihre größtenteils unbekannte Biosynthese untersuchen,<sup>[6]</sup> benötigt man effiziente Syntheserouten zu diesen Basen und letztlich zur tRNA, in der sie enthalten sind.

Wir beschreiben hier eine effiziente, stereoselektive Synthese des hypermodifizierten tRNA-Nucleosids Queuosin.<sup>[7]</sup> Dabei wird als Schlüsselschritt eine reduktive Amierung des 7-Desazaguanosinaldehyds **3** mit dem Cyclopentenylamin **2**,<sup>[8]</sup> das aus der Allylazid-Zwischenstufe **4** hervorgeht, durchgeführt (Schema 1).

Die vorgestellte kurze Synthese des Allylamins **2** ausgehend von der Vorstufe **4** setzt jedoch voraus, dass die Mitsunobu-Reaktion (Schema 2, Stufe e)<sup>[9]</sup> nach einer definierten Regio- ( $S_N2$  gegenüber  $S_N2'$ ) und Stereochemie (Umkehr der Konfiguration) abläuft. Zusätzlich muss die [3.3]-sigmatrope Umlagerung kontrolliert werden, der Allylazide wie **4** unterliegen.<sup>[10]</sup> Ein derartiger Ansatz scheint zunächst – bedingt durch die effiziente [3.3]-sigmatrope Umlagerung der Allylazide und die bekannte<sup>[19]</sup> fehlende Regiokontrolle der

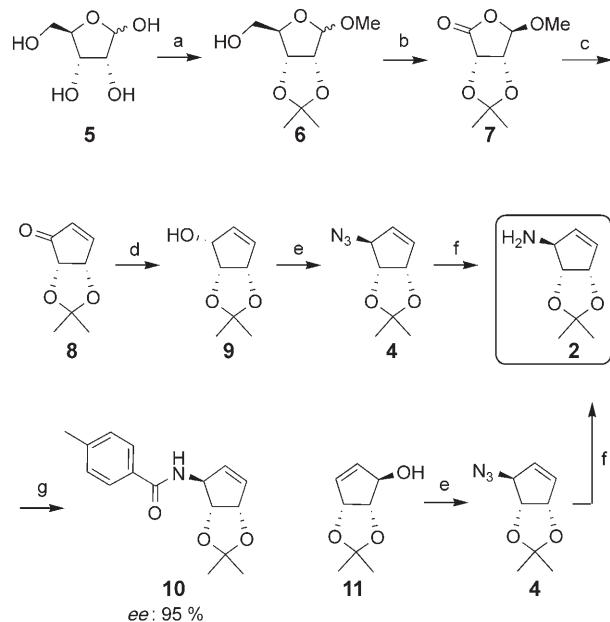


Schema 1. Struktur von Queuosin, seinen Derivaten und Schlüsselverbindungen. Bz = Benzoyl.

\* F. Klepper, E.-M. Jahn, V. Hickmann, Prof. Dr. T. Carell  
Department Chemie und Biochemie  
Ludwig-Maximilians-Universität  
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Deutschland)  
Fax: (+49) 89-2180-77756  
E-Mail: thomas.carell@cup.uni-muenchen.de

\*\* Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Volkswagen-Stiftung (Förderstichwort: Konformationelle Kontrolle biomolekularer Funktionen), dem Marie-Curie-Forschungsnetzwerk der EU (CLUSTOXDNA) und dem Fonds der Chemischen Industrie für ihre großzügige finanzielle Unterstützung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



Schema 2. Synthese von Cyclopentenylamin **2**: a) 2,2-Dimethoxypropan, MeOH, HClO<sub>4</sub>, Aceton, 94%; b) PCC (4.0 Äquiv.), Benzol, Rückfluss, 46%; c) (MeO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>3</sub>, nBuLi, THF, 0°C, 56%; d) NaBH<sub>4</sub>, CeCl<sub>3</sub>, MeOH, 0°C, 95%; e) DIAD, PPh<sub>3</sub>, HN<sub>3</sub> (1.3 M in Toluol), THF, 0°C; f) PPh<sub>3</sub>, THF, 0°C, 72% (65% von **11**) in zwei Stufen; g) Toluoylchlorid, NEt<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 60%. PCC = Pyridiniumchlorochromat, DIAD = Diisopropylazodicarboxylat.

Mitsunobu-Reaktion von Allylalkoholen – nicht sehr attraktiv zu sein.

Der Cyclopentenyl-Baustein **2** wurde ausgehend von D-(-)-Ribose (**5**) synthetisiert. Die 2'- und 3'-Hydroxygruppen wurden als Acetonid geschützt, und der resultierende Zucker wurde in das Monomethylacetal **6** umgewandelt. Anschließend wurde **6** mit einem Überschuss an Pyridiniumchlorochromat oxidiert und ergab unter C-C-Bindungsspaltung Lacton **7**. Eine intermolekulare Wittig-Reaktion mit Dimethyl(methylphosphonat) und *n*BuLi führte zum Pentenon **8**.<sup>[11]</sup> Eine stereospezifische Reduktion von **8** mit Natriumborhydrid ermöglichte die Synthese des Allylalkohol-Intermediats **9** über lediglich vier Stufen in einer Gesamtausbeute von 23%. Eine anschließende Mitsunobu-Reaktion mit darauf folgender Staudinger-Reduktion bei Raumtemperatur ergab ausschließlich das Allylamin **2**. Zur Bestimmung seiner Enantiomerenreinheit wandelten wir **2** in das toluoylgeschützte Derivat **10** um. Die Analyse von **10** mit chiraler HPLC ergab, dass **2** mit einem unbefriedigenden *ee*-Wert von <80% erhalten wurde. Der Grund war entweder eine partielle *anti*-S<sub>N</sub>2'-Reaktion wegen fehlender Regiokontrolle oder eine Racemisierung, hervorgerufen durch eine Allylazid-Umlagerung.<sup>[12]</sup> Zur detaillierten Untersuchung der Allylazid-Umlagerung wurde das Allylazid **4** auf 60°C erhitzt. Innerhalb weniger Stunden sank der Wert der optischen Drehung auf null. Die [3.3]-sigmatrope Allylazid-Umlagerung ist damit auch bei Raumtemperatur ein Problem.

Mit dem Ziel, die unerwünschte Allylazid-Umlagerung zu verhindern, wurde die verschwindende optische Drehung (Abbildung 1) von **4** in reinem Ethanol bei unterschiedlichen Temperaturen gemessen. Wie sich zeigte, kann das Einstellen des Allylazid-Gleichgewichts, das bei Raumtemperatur sehr schnell erfolgt, bereits bei 0°C effizient vermieden werden! Nach Kontrolle, dass die Racemisierungsgeschwindigkeit in THF und Ethanol identisch war, wurde die Mitsunobu-Reaktion von **9** zu **4** bei 0°C durchgeführt. Eine Staudinger-Reduktion, ebenso bei 0°C, ergab **2**, das für die chirale

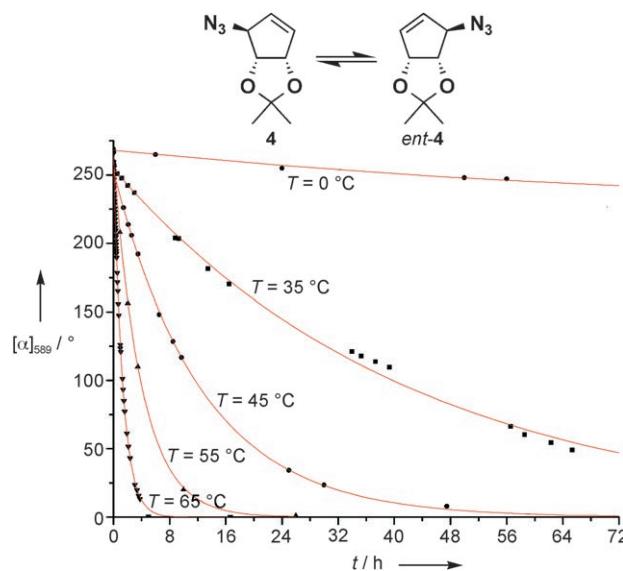


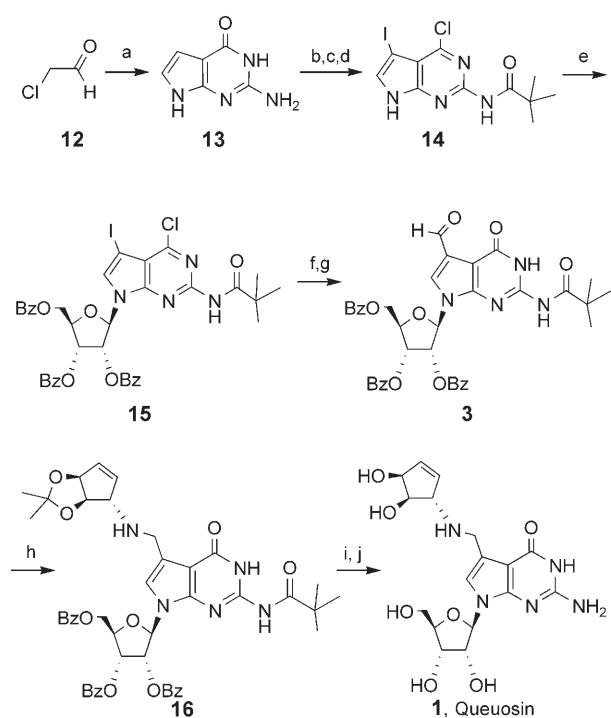
Abbildung 1. [3.3]-sigmatrope Umlagerung von **4** bei  $T=0, 35, 45, 55$  und  $65^{\circ}\text{C}$  in EtOH.

HPLC-Analyse erneut in **10** umgewandelt wurde. Diesmal wurde **2** mit einem exzellenten *ee*-Wert von 95% in einer Ausbeute von 72% über beide Stufen erhalten.

Kürzlich veröffentlichte Arbeiten nutzten das sich schnell einstellende Allylazid-Gleichgewicht<sup>[10a,13]</sup> – wir zeigen hier dagegen, dass sich die Umlagerung auch effizient unterdrücken lässt, was die Verwendung von chiralen Allylaziden als attraktive Synthesebausteine ermöglicht. Darüber hinaus belegt die Unterdrückung der Allylazid-Umlagerung, dass die Mitsunobu-Reaktion in unserem Fall unerwarteterweise unter strenger regiochemischer Kontrolle abläuft.<sup>[19]</sup> Wir beobachten ausschließlich einen S<sub>N</sub>2- und keinen *anti*-S<sub>N</sub>2'-Angriff des Azids auf den Allylalkohol.

Die ungewöhnliche Selektivität der Mitsunobu-Aminierung zeigt sich auch darin, dass bei Verwendung des diastereomeren Allylalkohols **11**<sup>[14]</sup> ebenfalls das Allylazid **4** und nach der Staudinger-Reduktion das Allylamin **2** entstehen. Dies ist nur erklärbar, wenn wir in diesem Fall eine für Mitsunobu-Aminierungen untypische *syn*-S<sub>N</sub>2'-Reaktivität annehmen.<sup>[15,16,19]</sup>

Für die Synthese von 7-Formyl-7-desazaguanosin als zweitem Schlüsselbaustein zur Synthese von Queuosin **1** wurde eine kurze Strategie entwickelt, die in Schema 3 dargestellt ist. Die Kondensation von Chloracetaldehyd **12** mit 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin ergab 7-Desazaguanin (**13**). Chlorierung der 5-Position mit Phosphorylchlorid und



Schema 3. Synthese von Queuosin (**1**): a) 1) NaOMe, H<sub>2</sub>O, DMF; 2) 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin, NaOAc, 86%; b) POCl<sub>3</sub>, 120°C, 78%; c) PivCl, Pyridin, 64%; d) NIS, THF, 81%; e) BSA, TMSTf, 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose, MeCN, 60%; f) DABCO, NEt<sub>3</sub>, CsOAc, DMF, 63%; g) [Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>], PPh<sub>3</sub>, CO, Bu<sub>3</sub>SnH, 73%; h) **2**, Benzol, dann NaBH<sub>4</sub>, EtOH, 85%; i) NaOH, MeOH; j) 2 N HCl, 45%. Piv = Pivaloyl, NIS = N-Iodsuccinimid, BSA = Bis(trimethylsilyl)acetamid, TMSTf = Trimethylsilyltriflat, DABCO = 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan.

Schützen der exocyclischen Aminogruppe mit Pivaloylchlorid, gefolgt von einer Iodierung mit NIS ergab das Desazapurinderivat **14**. Dieses wurde mit geschützter D-(–)-Ribose unter Vorbrüggen-Bedingungen gekuppelt und ergab so das Iodnucleosid **15** in guten Ausbeuten.<sup>[17]</sup>

Nach einer Dechlorierung von **15** mit DABCO und Triethylamin wurde die Aldehydgruppe über eine Palladium-katalysierte CO-Insertion eingeführt; anschließend wurde das metallorganische Intermediat mit Tributylzinnhydrid abgefangen. Die reduktive Aminierung von **3** mit dem Cyclopentenylamin **2** verlief mit Natriumborhydrid als Hydridquelle in hervorragender Ausbeute. Die Entschützung mit Natriumhydroxid zur Abspaltung der Pivaloyl- und Benzoylschutzgruppen und die anschließende Behandlung mit Säure zur Abspaltung der Acetonidschutzgruppe ergaben das hypermodifizierte Nucleosid Queuosin (**1**) in nur 15 Stufen und einer Gesamtausbeute von 6.4% (die analytischen Daten sind identisch zu den publizierten Daten des Naturstoffs<sup>[18]</sup>).

Wir haben hier eine kurze, konvergente Synthese des hypermodifizierten tRNA-Nucleosids Queuosin vorgestellt, das in der Antikodonschleife von tRNA lokalisiert ist. Die Synthese lässt sich effizient unter Verwendung eines Allylazid-Intermediats durchführen. Die [3.3]-sigmatrope Umlagerung des Allylazid-Intermediats, die zur Racemisierung des Schlüsselbausteins führt, kann bereits bei 0°C unterdrückt werden. Damit können chirale Allylazide nun als wertvolle Intermediate in der Naturstoffsynthese eingesetzt werden. Nicht zuletzt ebnet die vorgestellte einfache Synthese von Queuosin auch den Weg für detaillierte Studien zu dessen Funktion innerhalb des Dekodierungsprozesses.

Eingegangen am 9. November 2006  
Online veröffentlicht am 20. Februar 2007

**Stichwörter:** Allylverbindungen · Azide · Mitsunobu-Reaktionen · Nucleoside · Umlagerungen

- [1] a) R. Lührmann, H. Eckhardt, G. Stoeffler, *Nature* **1979**, *280*, 423–425; b) J. W. Lee, K. Beebe, L. A. Nangle, J. Jang, C. M. Longo-Guess, S. A. Cook, M. T. Davission, J. P. Sundberg, P. Schimmel, S. L. Ackerman, *Nature* **2006**, *443*, 50–55.

- [2] a) P. F. Agris, *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 223–238; b) T. Daviter, F. V. Murphy IV, V. Ramakrishnan, *Science* **2005**, *308*, 1123–1124.  
[3] a) S. Yokoyama, T. Miyazawa, Y. Iitaka, Z. Yamaizumi, H. Kasai, S. Nishimura, *Nature* **1979**, *282*, 107–109; b) H. Kasai, H. Nakanishi, R. D. Macfarlane, D. F. Torgerson, Z. Ohashi, J. A. McCloskey, H. J. Gross, S. Nishimura, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 5044–5046; c) M. Okada, S. Nishimura, *Nucleic Acids Res.* **1977**, *4*, 2931–2937.  
[4] a) M. Blaise, H. D. Becker, G. Keith, C. Cambillau, J. Lapointe, R. Giege, D. Kern, *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 2768–2775; b) J. Salazar, A. Ambrogelly, P. F. Crain, J. A. McCloskey, D. Söll, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 7536–7541; c) M. Blaise, H. D. Becker, J. Lapointe, C. Cambillau, R. Giege, D. Kern, *Biochimie* **2005**, *87*, 847–861.  
[5] a) F. V. Murphy IV, V. Ramakrishnan, A. Malkiewicz, P. F. Agris, *Nat. Struct. Biol.* **2004**, *11*, 1186–1191; b) C. Höbartner, M. Ebert, B. Jaun, R. Micura, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 619–623; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 605–609.  
[6] a) E. A. Meyer, R. Brenk, R. K. Castellano, M. Furler, G. Klebe, F. Diederich, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 250–253; b) E. A. Meyer, M. Furler, F. Diederich, R. Brenk, G. Klebe, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 1333–1356.  
[7] T. Ohgi, T. Kondo, T. Goto, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3629–3633.  
[8] a) K. H. Kim, M. J. Miller, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4571–4573; b) B. M. Trost, M. T. Sorum, *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 432–435.  
[9] D. Gagnon, S. Lauzon, C. Godbout, C. Spino, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4769–4771.  
[10] a) A. K. Feldman, B. Colasson, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13444–13445; b) A. Gagneux, S. Winstein, W. G. Young, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 5956–5957.  
[11] M. S. Ali, K. Ramesh, R. T. Borchardt, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1509–1512.  
[12] G. Cardillo, S. Fabbroni, L. Gentilucci, R. Perciaccante, F. Puccinelli, A. Tolomelli, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 533–536.  
[13] H. Takasu, Y. Tsuji, H. Sajiki, K. Hirota, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11027–11031.  
[14] H. Ovaa, J. D. C. Codee, B. Lastdrager, H. S. Overkleft, A. Gijsvert, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7987–7990.  
[15] B. K. Shull, T. Sakai, J. B. Nichols, M. Koreeda, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8294–8303.  
[16] R. M. Magid, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 1901–1930.  
[17] F. Seela, X. Peng, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 81–90.  
[18] T. Ohgi, T. Kondo, T. Goto, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3629–3633.  
[19] J. Mulzer, G. Funk, *Synthesis* **1995**, 101–112.