

Iterative Synthese von Nukleosidoligophosphaten mit Phosphoramiditen**

Gregor S. Cremosnik, Alexandre Hofer und Henning J. Jessen*

Abstract: P-Amidite können verwendet werden, um in einer iterativen Kupplung selektiv gemischte P^{III} - P^V -Anhydride herzustellen. Diese Intermediate können oxidiert und die terminalen Fluorenylmethylgruppen darauffolgend abgespalten werden. Eine iterative Synthese (Kupplung, Oxidation, Entschützung) von Nukleosidoligophosphaten kann sowohl in Lösung als auch auf einer festen Phase durchgeführt werden. Die Geschwindigkeiten und Ausbeuten der einzelnen Schritte sind hoch, das Vorgehen einfach (keine wasserfreien Reagentien und Lösungsmittel, atmosphärische Bedingungen, keine Schutzgruppen am Nukleotid), und die Reinigung ist sehr einfach. Die Methode kann bei allen kanonischen Nukleosiden angewendet werden und verspricht eine signifikante Vereinfachung des sonst mühsamen Prozesses der P-Anhydrid-Synthese.

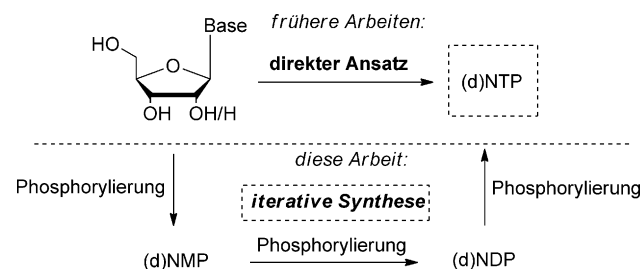
In der Natur enthalten viele wichtige Moleküle Phosphoranhydrid-Bindungen.^[1] Eines der häufigsten Ziele der P-Anhydrid-Synthese sind Nukleosidtriphosphate (NTP). Die effiziente Bildung der P-Anhydrid-Bindung und die darauffolgende Reinigung des Zielmoleküls sind immer noch wesentliche Herausforderungen.^[2] Für die Synthese von Nu-

kleosidtriphosphaten gibt es generell zwei Strategien (siehe Schema 1). In einer fragmentorientierten Strategie wird die Triphosphatgruppe direkt mit dem 5'-OH des Nukleosids verbunden. Alternativ kann ein Diphosphat-Nucleophil mit einem aktivierten Nukleosidmonophosphat (NMP) kondensiert werden.^[3,4] Eine bisher nicht verwendete Strategie ist die iterative Kupplung ausgehend vom Nukleosid und dem Durchlaufen sämtlicher Phosphorylierungsstadien (vom NMP über NDP zu NTP). Ein wesentlicher Vorteil dieser Strategie ist, dass sämtliche Zwischenstufen isoliert werden können, welche auch in der enzymatischen Synthese von NTPs vorkommen.^[5] Zusätzlich würde ein iterativer Ansatz die Synthese von monodispersen Polyphosphatketten mit definierter Länge vereinfachen.

Eine iterative Synthese könnte auf P^V - oder P^{III} -Chemie basieren. Es ist bekannt, dass die Kondensation einer aktivierten P^V -Spezies mit Phosphaten ohne Schutzgruppen durchgeführt werden kann, ein solches Beispiel existiert jedoch nicht für P^{III} -basierte Kupplungen. Auf der anderen Seite leidet die P^V -Chemie oft an langen Reaktionszeiten, der Verwendung eines großen Überschusses an Reagentien, niedrigen bis moderaten Ausbeuten und zeitaufwendigen Reinigungen.^[3] Im Vergleich können in der P^{III} -Chemie fast äquimolare Mengen an Ausgangsstoffen verwendet werden, zudem sind die hohe Effizienz und Geschwindigkeit der Kupplungen aus der Oligonukleotidsynthese bestens bekannt.^[6] Deshalb würde eine auf P^{III} -Chemie beruhende iterative Synthese theoretisch Zugang zu NTPs in hohen Ausbeuten erlauben, mit einfacher Reinigung und effizienten Kupplungsgeschwindigkeiten.

Um den iterativen Prozess zu kontrollieren, sind zwei Schutzgruppen am terminalen Phosphat nötig. Im besten Fall lassen sich diese schnell und quantitativ ohne Hydrolyse der P-Anhydrid-Bindung abspalten, um das terminale Phosphat für eine erneute Kupplung freizugeben. Üblicherweise ist es einfach, eine Schutzgruppe vom terminalen Phosphat abzuspalten, die zweite ist jedoch nicht einfach zu entfernen.^[7] Es wurde gezeigt, dass die Fluorenylmethylgruppe (Fm) sich von Phosphotriestern zweimal abspalten lässt. Jedoch variieren die angegebenen Reaktionszeiten (von 5 min bis 18 h),^[8] und im Zusammenhang mit P-Anhydriden wurde die Fm-Gruppe noch nicht studiert.

Um die P^{III} -basierte Kupplung erheblich zu verbessern, ist es nötig, Schutzgruppen am Nukleosid zu vermeiden. In dieser Arbeit waren P-Amidite (z. B. **1**, Schema 2) die Reagentien erster Wahl, besonders aufgrund ihrer Stabilität, ihrer Vielseitigkeit und der Möglichkeit, sie durch saure Reagentien zu aktivieren. Man ist der Ansicht, dass die Aktivierung erst durch N-Protonierung und dann durch Substitution des Amins durch den deprotonierten Aktivator erfolgt. Das

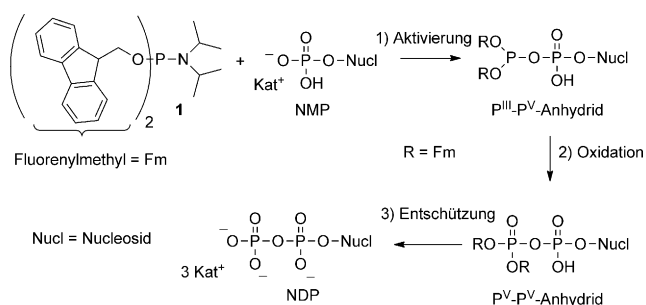


Schema 1. Die direkte Synthese von Nukleosidtriphosphaten (NTP) und ein neuer Ansatz, der auf einer iterativen Kupplungsstrategie basiert und über Nukleosidmonophosphat (NMP) und Nukleosiddiphosphat (NDP) erfolgt.

[*] G. S. Cremosnik, A. Hofer, Dr. H. J. Jessen
Organisch-Chemisches Institut, Universität Zürich (UZH)
Winterthurerstrasse 190, 8057 Zürich (Schweiz)
E-Mail: Henningjacob.jessen@uzh.ch

[**] Wir danken Prof. J. Siegel und Prof. J. Robinson für die anhaltende Unterstützung sowie dem NMR-Service an der UZH (O. Zerbe). Diese Studie wurde vom Fonds der Chemischen Industrie (FCI, Liebig-Stipendium an H.J.J.) und dem Schweizer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (SNF, Ambizione Grant PZ00P2_136816 an H.J.J.) unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201306265> zu finden.



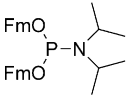
Schema 2. Reagentien, Zwischenstufen und Produkte, die während der P-Amidit-basierten Umsetzung von NMPs zu NDPs auftreten.

freigewordene Amin wirkt anschließend als Base, sobald die OH-Gruppe des Zielmoleküls phosphityliert wurde.^[9] Bei der Bildung von P-Anhydrid-Bindungen könnte auch Phosphorsäure als saurer Aktivator wirken, und die Substitution des Amins würde direkt in einem gemischten P^{III}-P^V-Anhydrid resultieren und somit Nebenreaktionen an freien OH-Gruppen verhindern. Das freigewordene Amin würde dann das zweite Proton an der Phosphorsäure neutralisieren (nicht gezeigt).

Um die Durchführbarkeit dieses Ansatzes zu überprüfen, wurden kommerziell erhältliche NMPs, als Disäuren vorliegend, mit P-Amiditen gekuppelt, und die Reaktion wurde mittels ³¹P-NMR-Spektroskopie verfolgt. Die Reaktion erfolgte reibungslos und führte selektiv zur Bildung der P-Anhydrid-Bindung innerhalb weniger Minuten. Jedoch verlangsamte sich die Reaktion nach ca. 50 % Umsatz merklich, was auf den großen Unterschied der pK_a-Werte der di- und monoprotonierten Phosphate zurückzuführen ist. Die Reaktion verlief auch in Methanol ohne signifikante Zersetzung des aktivierten P-Amidits und tolerierte einen Wassergehalt von bis zu 5 % v/v. Das Hinzufügen einer externen Protonenquelle, wie Pyridiniumchlorid, trieb die Reaktion bis zur Vollständigkeit; jedoch führte ein kleiner Überschuss von Aktivator direkt zur Zersetzung der gemischten P^{III}-P^V-Bindung, und somit war die Reaktion schwer zu handhaben. Ein Ziel dieser Studie war die komplette Umsetzung des Startmaterials, um die Reinigung zu vereinfachen, deshalb wurde, von diesen Beobachtungen ausgehend, ein anderer Ansatz entwickelt.

Die NMPs wurden nun in monoazider Form mit einem lipophilen Gegenion wie Trihexylammonium (THA) oder Tetra-*N*-butylammonium (TBA) in DMSO oder DMF unter atmosphärischen Bedingungen gelöst (Schema 2). Weder die Reagentien noch das Lösungsmittel wurden vor dem Gebrauch getrocknet. Ein Screening von Aktivatoren zeigte, dass 1*H*-Phenyltetrazol und 5-(Ethylthio)tetrazol gute Reagentien für die Aktivierung von P-amidit **1** sind, ohne gegenüber OH-Gruppen, wie in Adenosin-5'-monophosphat (5'-AMP), eine Reaktivität zu erzeugen. Die Kupplungen waren so mit einem kleinen Überschuss von 1.1 Äquiv. Phosphoramidit durchzuführen und ergaben nach einer Oxidation mit *m*CPBA oder *t*BuOOH, bis-Fm-geschützte P^V-P^V-Anhydride (Schema 2). Keine Phosphitylierungen an den OH-Gruppen wurden beobachtet. Zudem wurden auch primäre OH-Gruppen wie in 3'-AMP unter diesen Bedingungen nicht

Tabelle 1: Kupplung der Nukleosidmonophosphate (NMP) zu den entsprechenden Nukleosiddiphosphaten (NDP).

			+	NMP2- 2 Kat ⁺	<div>1) Aktivierung 2) Oxidation 3) Entschützung 4) Kristallisation</div>	NDP3- 3 Kat ⁺
Eintrag	NMP ^[a]	Bedingungen ^[b]	Zeit ^[c] [min]	Ausb. ^[d] [%]		
1	5'-AMP	DMSO/1.4/5 tBuOOH/5	10/10/10	> 95/75		
2	5'-GMP	DMSO/1.2/10 tBuOOH/5	30/2/10	> 95/75		
3	5'-UMP	DMF/1.2/1.5 mCPBA/5	20/2/10	> 95/93		
4	5'-CMP	DMF/1.1/1.5 mCPBA/5	10/2/5	> 95/77		
5	3'-AMP	DMF/1.2/1.5 mCPBA/10	30/5/10	> 95/87		
6	5'-TMP	DMF/1.2/1.5 mCPBA/10	30/2/10	> 95/80		

[a] Gefriergetrocknete NMPs wurden ohne weiteres Trocknen verwendet. [b] Alle Reaktionen wurden in DMF oder DMSO mit 5-Phenyl-1*H*-tetrazol oder 5-(Ethylthio)-1*H*-tetrazol als Aktivator durchgeführt (1.1–2.5 Äquiv.), die Daten betreffen: Lösungsmittel/Äquiv. P-Amidit/Äquiv. Oxidationsmittel, (v/v) % Piperidin für die Entschützung. [c] Die Daten betreffen: Kupplungszeit in Minuten/Oxidationszeit in Minuten/Entschütungszeit in Minuten. [d] die Daten betreffen: Umsetzung des NMP gemäß ³¹P-NMR-Spektroskopie/isolierte Ausbeute als Piperidinium-Salz. Abkürzungen: A: Adenosin, G: Guanosin, U: Uridin, C: Cytidin, T: Thymidin, DP: Diphosphat, TP: Triphosphat, Fm: Fluorenylmethyl, *m*CPBA: *meta*-Chlorperbenzoesäure, *t*BuOOH: *tert*-Butylhydroperoxid.

modifiziert (siehe Hintergrundinformationen), wie mit ³¹P-NMR-Spektroskopie gezeigt wurde. Bei der Entschützung dieser Verbindung wurden nur 5 % 2'-3'-cyclisiertes AMP detektiert.

Die etablierten Reaktionsbedingungen wurden auf verschiedene NMPs angewendet (Tabelle 1) und sogar mit Cytidin-5'-monophosphat (CMP) konnten keine nennenswerten Nebenreaktionen beobachtet werden (Abbildung 1 und Hintergrundinformationen). Die Reaktionen liefen in weniger als 30 min ab, und die darauffolgende Oxidation ohne Isolierung war innerhalb von 5 min abgeschlossen. 2'-Deoxynukleotide wie Thymidin-5'-monophosphat (TMP) waren auch ausgezeichnete Substrate für die angegebenen Bedingungen.

Die endständig Fm-geschützten Zwischenstufen wurden – mit oder ohne vorangehende Kristallisation – durch Zugabe von 5 % v/v Piperidin entschützt. Diese Entschützungen verliefen rasch sowohl in DMF als auch in DMSO (5 min), was die Abhängigkeit der Abspaltungsgeschwindigkeit vom Lösungsmittel aufzeigt.

Das Nukleosiddiphosphat fällt nach kompletter Entschützung üblicherweise in beinahe reiner Form und ohne Kupplungs- oder Oxidationsreagentien aus der Reaktionsmischung aus. Das wesentliche Nebenprodukt der Reaktion war Phosphat, das durch Oxidation und anschließendes Entschützen vom Überschuss an P-Amidit entsteht und einfach zu entfernen ist.

Die Kupplungseffizienz bezogen auf die Umsetzung vom NMP war in jedem Fall > 95 %, und ein Beispiel des Kupplungsverlaufes von CMP (als Salz von 1.3 TBA) zu Cytidin-5'-diphosphat (CDP), verfolgt mittels ³¹P-NMR-Spektroskopie, ist in Abbildung 1 gegeben. Das CDP, welches in dieser Weise

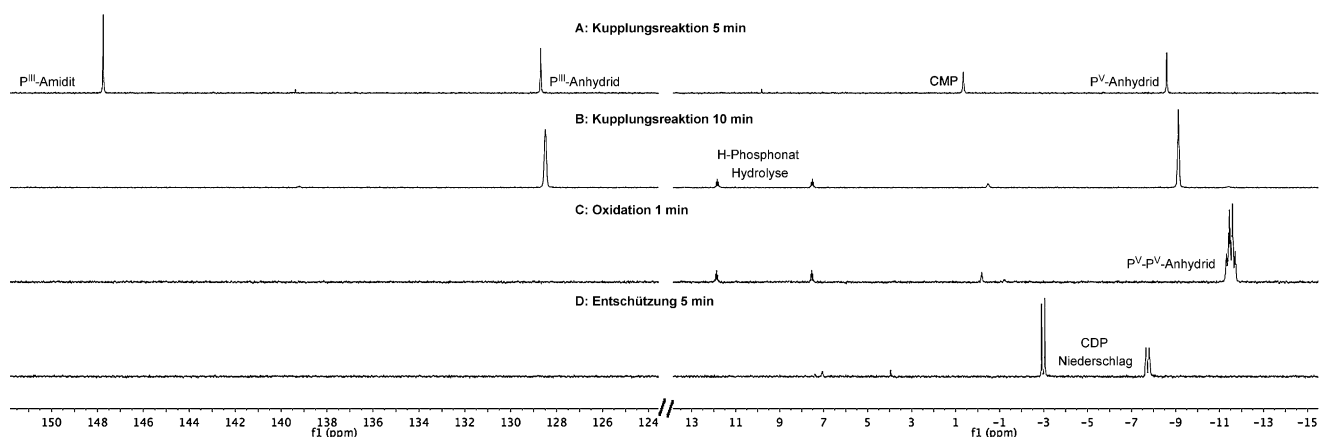


Abbildung 1. ^{31}P -NMR-Studie (^1H -gekoppelt), die die Bildung von CDP aus CMP in $[\text{D}_7]\text{DMF}$ unter Standardbedingungen aufzeigt (siehe Schema 2 für die Zuweisung der Zwischenstufen). A) Das Bis-Fm-P-Amidit **1** (1.1 Äquiv.) und CMP (1.0 Äquiv., 1.3 TBA-Salz) wurden in $[\text{D}_7]\text{DMF}$ gelöst, und 2.5 Äquiv. 5-(Ethylthio)-1*H*-tetrazol wurden dazugegeben. Die Umsetzung von CMP und dem P-Amidit geht einher mit dem Wachstum eines gekoppelten Signals des gemischten P^{III} - und P^{V} -Anhydrids. B) Die Kupplungsreaktion war innerhalb von 10 min abgeschlossen. Der Überschuss an P-Amidit wurde zum H-Phosphonat hydrolysiert. C) Die Oxidation mit 1.5 Äquiv. *m*CPBA war nach 1 min vollständig, und es entstand das asymmetrische P^{V} - P^{V} -Anhydrid. D) Die Zugabe von 5 % Piperidin v/v führte zur Entschützung des entstandigen Fm-geschützten Phosphat innerhalb von 5 min. CDP fiel aus, wurde aufgefangen und für die NMR-Analyse in MeOD gelöst.

hergestellt wurde, enthielt weniger als 10 % Verunreinigung, hervorgehend durch Überschuss an eingesetztem P-Amidit, und die Kristallisation der geschützten Zwischenstufe (Diethylether/Hexane) entfernte die Verunreinigungen vollständig (siehe Hintergrundinformationen). Die isolierte Ausbeute an reinem CDP betrug 77 %, es bestand kein Bedarf an Chromatographie, und die gesamte Reaktionszeit für alle Umwandlungen lag unter 30 min.

Die gleiche Methode wurde angewendet, um das P-Amidit **1** mit verschiedenen ungeschützten Nukleosiddiphosphaten zu koppeln, was zu endständig blockierten Triphosphaten führte (Abbildung 2). Erneut erwiesen sich die Reaktionen mit durchschnittlich 1.6 Äquivalenten an P-Amidit **1** als selektiv. Unter diesen Bedingungen liefen die Kupplungen laut ^{31}P -NMR-Spektroskopie fast quantitativ ab, gefolgt von der langsamen Hydrolyse der neu gebildeten Bindung, was die Synthese im Vergleich zur NDP-Herstellung erschwerte. Das Ausfällen nach der Oxidation ergab geschützte NTPs, die aufgrund von Hydrolyse während der Oxidation 4–12 % NDP, aber keine andere Verunreinigung enthielten (Tabelle 2).

Die Entschützung wurde in DMSO durchgeführt, und die entschützten NTPs kristallisierten nach Zugabe von Et_2O . Die Reinheit dieses Materials war hoch und nur durch das Vorhandensein von kleinen Mengen NDP (4–12 %) beeinträchtigt, welche mit Umkehrphasen- oder starker Anionenaustauschchromatographie einfach entfernt werden können (siehe Abbildung 2, Linie D, für ein Beispiel der Qualität des Rohprodukts). Die generelle Anwendbarkeit dieses Kupplungsverfahrens hervorhebend war es auch möglich, ATP zum reinen Tetraphosphat (AP_4) in 50 % isolierter Ausbeute zu homologieren.^[10]

Die beobachtete Selektivität ist die Folge einer Abschwächung der Nukleophilie von Alkoholen im Vergleich zu Phosphaten und Wasser in DMSO oder DMF. Beim Verfolgen der Reaktionen wurde ersichtlich, dass zuerst das Phos-

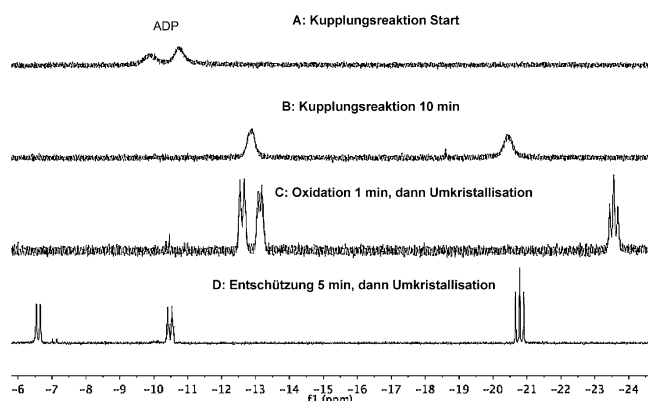


Abbildung 2. Partielle ^{31}P -NMR-Spektren (^1H -gekoppelt), die die Bildung von ATP aus ADP in $[\text{D}_7]\text{DMF}$ unter Standardbedingungen aufzeigen. A) Das Bis-Fm-P-Amidit **1** (1.5 Äquiv.) und ADP (1.0 Äquiv., 1.2 TBA-Salz) wurden in $[\text{D}_7]\text{DMF}$ gelöst, und 2.0 Äquiv. 5-(Ethylthio)-1*H*-tetrazol wurden dazugegeben. B) Die Kupplungsreaktion war innerhalb von 10 min abgeschlossen. Die Umsetzung von ADP wurde beobachtet, und ein neuer Satz an Signalen entstand ($\delta = -21$ ppm entspricht dem β -Phosphat im P^{V} - P^{V} - P^{III} -Anhydrid, $\delta = -12$ ppm entspricht dem α -Phosphat). C) Die Oxidation mit 1.9 Äquiv. *m*CPBA war nach 1 min vollständig, und es entstand das asymmetrische P^{V} - P^{V} -Anhydrid. Das Produkt wurde kristallisiert, um Verunreinigungen zu entfernen, und danach in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ gelöst. D) Die Zugabe von 5 % Piperidin in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ führte zur Entschützung des entstandigen Fm-geschützten Phosphats innerhalb von 5 min. ATP fiel nach Zugabe von Diethylether aus, wurde aufgefangen und für die NMR-Analyse in MeOD gelöst.

phat beinahe vollständig reagierte, gefolgt von der Hydrolyse des Überschusses an P-Amidit. Unter wasserfreien Bedingungen und mit Überschuss an P-Amidit wurden signifikante Nebenreaktionen an den OH-Gruppen beobachtet. Demnach fängt Wasser den Überschuss an P-Amidit ab und schützt

Tabelle 2: Kupplung von NDPs zu den entsprechenden NTPs.

Eintrag	NDP ^[a]	Bedingungen ^[b]	Zeit ^[c] [min]	Ausb. ^[d] [%]
1	5'-GDP	DMF/1.6/2 <i>m</i> CPBA/5	5/2/10	> 95/75
2	5'-ADP	DMF/1.7/2 <i>m</i> CPBA/5	10/2/5	> 95/76
3	5'-UDP	DMF/1.6/2 <i>m</i> CPBA/5	20/2/5	> 95/68
4	5'-CDP	DMF/1.6/2 <i>m</i> CPBA/5	20/1/5	> 95/79

[a] Gefriergetrocknete NDPs wurden ohne weiteres Trocknen verwendet. [b] Alle Reaktionen wurden in DMF oder DMSO mit 2 Äquiv. 5-Phenyl-1*H*-tetrazol oder 5-(Ethylthio)-1*H*-tetrazol als Aktivator durchgeführt. [c] Die Daten betreffen: Kupplungszeit in Minuten/Oxidationszeit in Minuten/Entschützungszeit in Minuten. [d] Die Daten betreffen: Umsetzung des NDP gemäß ³¹P-NMR-Spektroskopie/isolierte Ausbeute als Piperidinium-Salz (mit 4–12 % NDP). Abkürzungen: A: Adenosin, G: Guanosin, U: Uridin, C: Cytidin, DP: Diphosphat, TP: Triphosphat, Fm: Fluorenylmethyl, *m*CPBA: *meta*-Chlorperbenzoesäure.

während der Reaktion die Hydroxygruppen vor der Phosphitylierung.

Neben der Tatsache, dass P-Amidite in schutzgruppenfreien Kupplungsreaktionen verwendet werden können, wäre die Einführung von P-Anhydriden in an fester Phase gebundene (Oligo)Nukleotide eine interessante Anwendung der iterativen Nukleosidoligophosphat-Synthese.^[4f,11] In diesem Fall wäre die Methode auch geeignet für die Synthese von RNA- oder DNA-Strängen mit endständigem Oligophosphat, und solche Verbindungen sind z.B. in wichtigen biologischen Prozessen wie der angeborenen Immunantwort von Interesse.^[12] Eine iterative P-Amidit-Kupplungsstrategie würde die Verwendung von handelsüblichen Synthesizern erlauben, welche für die Anwendung dieser Reagentien optimiert wurden.

Als Machbarkeitsnachweis wurde an poröses Glas (controlled-pore glass, CP-Glas) gebundenes, geschütztes 2'-Deoxyguanosin (dG) 5'-detrityliert und anschließend mit dem P-Amidit **1** phosphityliert, oxidiert und entschützt, um an CP-Glas gebundenes dG-5'-Monophosphat zu erhalten. Die Iteration dieser Sequenz führte direkt zu dG-5'-Diphosphat und dG-5'-Triphosphat (Abbildung 3). Alle an der P-Anhydrid-Bildung beteiligten Schritte liefen innerhalb von 10 bis 20 min und unter Standardbedingungen ab. Die Abspaltung der Kupplungsprodukte vom CP-Glas ergab dG-Oligophosphate in akzeptabler Reinheit.

Zusammenfassend beweist diese Studie, dass P-Amidite in schutzgruppenfreien iterativen Kupplungen verwendet werden können, um selektiv gemischte P^{III}-P^V-Anhydride zu erhalten. Diese Zwischenprodukte können oxidiert und die Fluorenylmethylgruppen anschließend schnell abgespalten werden. Das Konzept ermöglicht eine iterative Synthese von Nukleosidoligophosphaten in Lösung und an fester Phase. Die Kupplungsgeschwindigkeiten und Ausbeuten sind hoch, die Verfahren praktisch (ungetrocknete Reagentien und Lö-

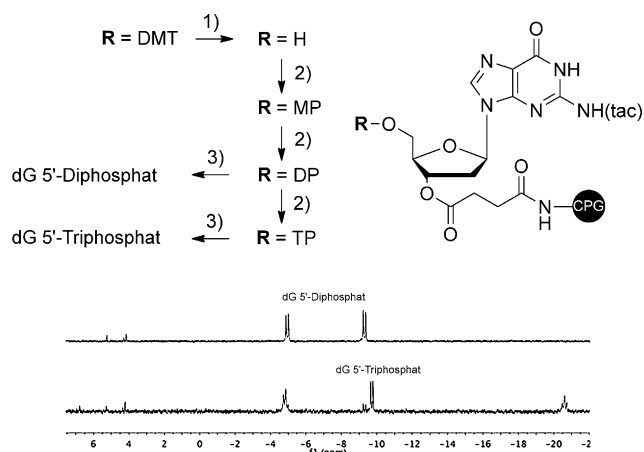


Abbildung 3. Iterative Festphasensynthese von dG-5'-Oligophosphaten. 1) TFA/DCM; 2) a: Amidit **1**, MeCN, 1*H*-Tetrazol; b: *m*CPBA; c: Waschen mit DMF, 5 % Piperidin; d: Waschen mit MeCN; 3) NH₄OH. ³¹P-NMR-Spektren in D₂O (¹H-entkoppelt) beweisen die Bildung von dGDP und dGTP (das ca. 20 % dGDP enthält) nach Abspaltung von der festen Phase. CPG: Controlled-Pore-Glas, DMT: Dimethoxytrityl, MP: Monophosphat, DP: Diphosphat, TP: Triphosphat, tac: *tert*-Butylphenoxyacetyl.

sungsmittel, Standardbedingungen) und die Reinigung ist sehr einfach. Diese Methode verspricht eine signifikante Vereinfachung des üblicherweise umständlichen Prozesses zur Herstellung von P-Anhydrid-Bindungen.

Eingegangen am 18. Juli 2013

Online veröffentlicht am 12. November 2013

Stichwörter: Chemo Selektivität · Festphasensynthese · Nukleotide · Phosphorylierung · Polyanionen

- [1] F. H. Westheimer, *Science* **1987**, 235, 1173–1178.
- [2] a) J. Caton-Williams, L. N. Lin, M. Smith, Z. Huang, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 8142–8144; b) J. Caton-Williams, M. Smith, N. Carrasco, Z. Huang, *Org. Lett.* **2011**, 13, 4156–4159; c) S. Mohamady, A. Desoky, S. D. Taylor, *Org. Lett.* **2012**, 14, 402–405.
- [3] Neuere Übersichten: a) K. Burgess, D. Cook, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 2047–2059; b) M. Hollenstein, *Molecules* **2012**, 17, 13569–13591; c) L. Weinschenk, C. Meier, *Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues* (Hrsg.: P. Merino), Wiley, Hoboken, **2013**.
- [4] Für ausgewählte Beispiele siehe Lit. [2] und a) Y. Ahmadibeni, K. Parang, *Org. Lett.* **2005**, 7, 5589–5592; b) J. Ludwig, *Acta. Biochim. Biophys.* **1981**, 16, 131–133; c) J. G. Moffatt, *Can. J. Chem.* **1964**, 42, 599–604; d) S. Mohamady, D. L. Jakeman, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 10588–10591; e) Q. Sun, J. P. Edathil, R. Wu, E. D. Smidansky, C. E. Cameron, B. R. Peterson, *Org. Lett.* **2008**, 10, 1703–1706; f) V. C. Tonn, C. Meier, *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 9832–9842; g) S. Warnecke, C. Meier, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3024–3030; h) W. D. Wu, C. L. F. Meyers, R. F. Borch, *Org. Lett.* **2004**, 6, 2257–2260.
- [5] A. R. Van Rompay, M. Johansson, A. Karlsson, *Pharmacol. Ther.* **2000**, 87, 189–198.
- [6] M. H. Caruthers, *Science* **1985**, 230, 281–285.
- [7] S. Capolicchio, D. T. Thakor, A. Linden, H. J. Jessen, *Angew. Chem.* **2013**, 125, 7050–7054; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 6912–6916.

- [8] a) L. Bialy, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1819–1822; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1748–1751; b) L. Bialy, H. Waldmann, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 2759–2780; c) C. Dinkel, C. Schultz, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1157–1159; d) B. G. Lawhorn, S. B. Boga, S. E. Wolkenberg, D. A. Colby, C. M. Gauss, M. R. Swingle, L. Amable, R. E. Honkanen, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16720–16732; e) M. Mentel, V. Laketa, D. Subramanian, H. Gillandt, C. Schultz, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3895–3898; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3811–3814; f) Y. Watanabe, T. Nakamura, H. Mitsumoto, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7407–7410; g) Y. Watanabe, M. Nakatomi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1583–1586.
- [9] a) S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859–1862; b) S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223–2311; c) E. J. Nurminen, J. K. Mattinen, H. Lonnberg, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, 1621–1628.
- [10] S. Mohamady, S. D. Taylor, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2612–2615.
- [11] a) Y. Ahmadibeni, R. K. Tiwari, G. Q. Sun, K. Parang, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2157–2160; b) I. Zlatev, T. Lavergne, F. Debart, J. J. Vasseur, M. Manoharan, F. Morvan, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2190–2193.
- [12] a) V. Hornung, J. Ellegast, S. Kim, K. Brzozka, A. Jung, H. Kato, H. Poeck, S. Akira, K. K. Conzelmann, M. Schlee, S. Endres, G. Hartmann, *Science* **2006**, *314*, 994–997; b) A. Pichlmair, C. Lassnig, C. A. Eberle, M. W. Gorna, C. L. Baumann, T. R. Burkard, T. Burckstummer, A. Stefanovic, S. Krieger, K. L. Bennett, T. Rulicke, F. Weber, J. Colinge, M. Muller, G. Superti-Furga, *Nat. Immunol.* **2011**, *12*, 624–630.