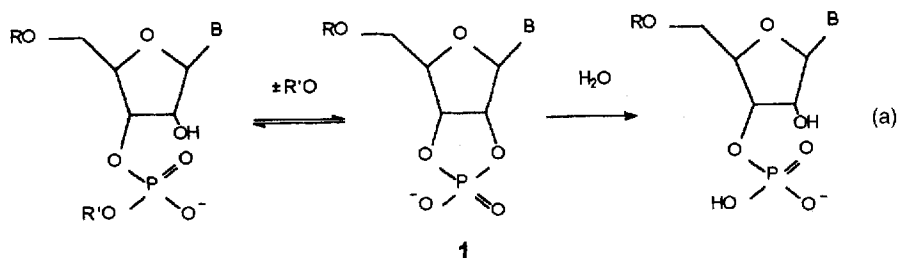


Biomimetische Phosphonylierung und Phosphorylierung von Glycosen und Desoxynucleosiden**

Svetomir B. Tzokov, Ivan T. Devedjiev,
Emilia K. Bratovanova und Dimitar D. Petkov*

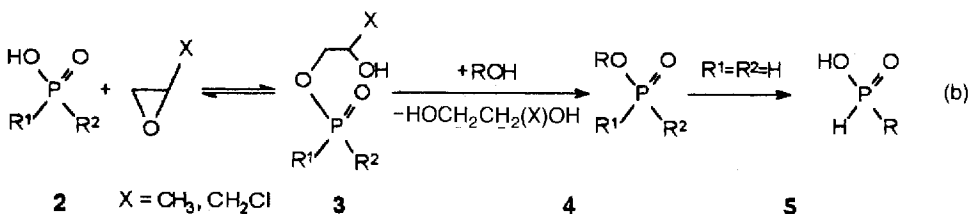
Während DNA nahezu inert ist, wird RNA unter milden, basischen Bedingungen rasch hydrolysiert. Todd et al.^[1] schrieben die hohe Reaktivität der Phosphodiesterbindungen bei RNA einer „nucleophilen Katalyse“ durch die benachbarte 2'-Hydroxygruppe zu; die Hydrolyse verläuft über ein cyclisches 2',3'-Phosphat **1** [Gl. (a)].



Alkylester von Glycerinphosphaten reagieren ähnlich^[2], und auch die Ribonuclease-A-katalysierte Hydrolyse verläuft über diesen Mechanismus^[3]. Eine Umkehrung des ersten Schritts von Reaktion (a) – eine Umesterung – ist ebenfalls beobachtet worden; über dieses Verfahren konnten sowohl einfache Alkylphosphate von Nucleosiden als auch Dinucleosidmonophosphate enzymatisch^[4, 5] und chemisch^[6] gewonnen werden. Die Bedeutung der vicinalen Hydroxygruppe an der Spaltungsstelle bei der Tetrahymena-Ribozym-Reaktion ist erst kürzlich unterstrichen worden^[7].

Das wachsende Interesse an Oligonucleotiden und Oligosacchariden und ihre Verwendung in der Antisense-Technik^[8] bzw. der Glycobiologie^[9] stimuliert die Entwicklung von Methoden zur Synthese von chemisch und optisch reinen Zuckerphosphaten in großem Maßstab^[10–12]. Wir berichten hier über eine Eintopfreaktion zur effizienten und spezifischen Phosphonylierung und Phosphorylierung von Glucose und Desoxynucleosiden in Analogie zu biochemischen Reaktionen.

Kürzlich gelang es Devedjiev et al.^[13, 14], Phosphinsäure **2** ($R^1 = R^2 = H$) mit Epoxiden und aliphatischen Alkoholen – über die Zwischenprodukte 2-Hydroxyalkylphosphinat **3** und (wahrscheinlich) das Alkylphosphinat **4** – nahezu quantitativ zu Alkylphosphonsäuren **5** umzusetzen [Gl. (b)]. Wie in der bio-



[*] Prof. Dr. D. D. Petkov, Dipl.-Bioing. S. B. Tzokov, Dr. E. K. Bratovanova
Laboratory of Biocatalysis, Institute of Organic Chemistry
Bulgarian Academy of Sciences
BG-1113 Sofia (Bulgarien)
Telefax: Int. + 2/700225
Doz. Dr. I. T. Devedjiev
Laboratory of Polycondensation Processes
Institute of Polymers, Bulgarian Academy of Sciences

[**] Diese Arbeit wurde von der bulgarischen nationalen Forschungsförderung gefördert.

chemischen Reaktion (a) ist die Gegenwart der vicinalen Hydroxygruppe bei **3** entscheidend, denn 2-Desoxyalkylphosphinate reagieren nicht^[14]. Angenommen, das Alkylphosphinat **4** stände als Zwischenprodukt fest, müßte die Reaktion anderer Phosphoroxosäuren – Phosphonsäuren **2** ($R^1 = OH$, $R^2 = H$) und Phosphorsäuren **2** ($R^1 = R^2 = OH$) – bei **4** stehenbleiben, da die Umlagerung $4 \rightleftharpoons 5$ nur mit Alkylphosphinaten ($R^1 = R^2 = H$) möglich ist^[11, 12].

Läßt man Phosphon- oder Phosphorsäure, einen Alkohol (D-Glucose oder Thymidin) und ein Epoxid (Propylenoxid oder Epichlorhydrin) in wasserfreiem organischen Lösungsmittel (Dioxan oder Pyridin) miteinander reagieren, können nur Alkylphosphonate **4** ($R^1 = H$, $R^2 = OH$) bzw. Alkylphosphate **4** ($R^1 = R^2 = OH$) isoliert werden (Tabelle 1). Die Rohausbeuten sind nahezu quantitativ. Die Reaktion mit D-Glucose verläuft regio- und stereospezifisch zu nur einem von fünf möglichen Konstitutionsisomeren und ausschließlich dem α -Anomer. Dies ist anders bei Thymidin: Um das Thymidin-3'-phosphonat oder -3'-phosphat zu erhalten, ist ein Schutz der 5'-Hydroxygruppe unumgänglich (siehe Tabelle 1).

Der chemische Prozeß (b) ist eine Kondensationsreaktion, wobei die einfach zugänglichen Epoxide als Kondensationsmittel dienen. Mit ihnen werden die Phosphoroxosäuren verestert, wobei eine Struktur entsteht – Hydroxygruppe benachbart zur veresterten Hydroxygruppe –, die man aus biochemischen Studien kennt^[1–5, 7], wenn ein bestimmter Reaktionsverlauf mit niedriger Aktivierungsenergie ermöglicht werden soll. Derartige Reaktionen, die entweder den Verlauf und/oder die Ergebnisse biochemischer Reaktionen imitieren, sind von Breslow biomimetisch genannt worden^[15].

Im Gegensatz zur biochemischen Reaktion (a) tritt die β -Hydroxygruppe bei der biomimetischen Reaktion (b) als 1,2-Diol auf. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß der Weg über ein cyclisches Phosphat nicht der einzige Mechanismus für die Hydrolyse und Aminolyse von β -Hydroxyestern von Phosphon- und Phosphorsäuren ist. Anstelle einer nucleophilen Katalyse durch die vicinale Hydroxygruppe – wie im Fall von Ribozym-Reaktionen^[16] – könnte diese auch als allgemeiner Säurekatalysator fungieren.

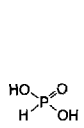
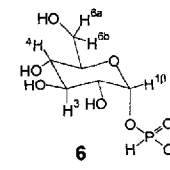
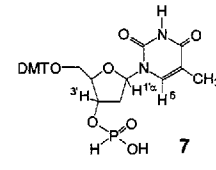
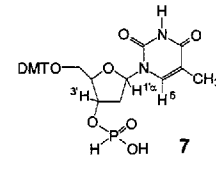
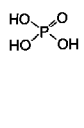
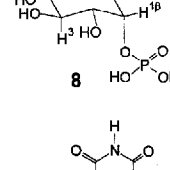
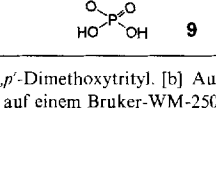
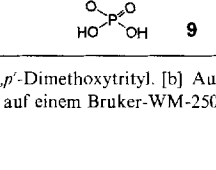
Die Regio- und Stereospezifität bei D-Glucose ist nicht überraschend, wenn man den kinetischen anomeren Effekt bei der Reaktion von Glycopyranosen berücksichtigt^[17]. Im Fall von

Thymidin bleibt eine Regiospezifität aus; sowohl die 5'- als auch die 3'-Hydroxygruppe werden in Reaktion (b) umgesetzt. Dieser Umstand macht es jedoch möglich, die Reaktion nach selektiver Blockierung einer Hydroxygruppe in der Oligonucleotidsynthese zu benutzen. So

ergab die 5'-Dimethoxytritylierung DMT-Thymidin-3'-H-phosphonat (Tabelle 1), einen Baustein für die effiziente und rasche Synthese von Oligonucleotiden^[11]. Desoxyadenosin, Desoxyguanosin und Desoxycytidin reagieren in geschützter Form in ähnlicher Weise.

Die hier beschriebene biomimetische Reaktion ist außerordentlich vielseitig, und DNA- wie Kohlenhydratsynthese sollten gleichermaßen profitieren. Man gelangt unter milden Bedingun-

Tabelle 1. Physikalische Daten und chemische Ausbeuten der Reaktionsprodukte, die durch die Reaktion zwischen Phosphoroxosäuren, Epoxid (Propylenoxid oder Epichlorhydrin) und Alkoholen (D-Glucose oder DMT[a]-Thymidin) erhalten wurden; sie ergaben zufriedenstellende Phosphoranalysen.

Phosphor- oxosäure	Produkt	¹ H-NMR-Daten [b]			Ausb. [c] [%]
		H	δ	J _H [Hz]	
		H1β	4.99 (dd)	3.5 (1 2) 12.8 (1 P)	85
		H3	3.49 (t)	9.5 (3 4)	
		H4	3.40 (t)	9.5 (3 4)	
		H6a	3.89 (dd)	1.5 (5 6a) 12.0 (6a6b)	
		H6b	3.70 (dd)	10.8 (5 6b) 12.0 (6a6b)	
		H-P	6.89 (d)	673.1 (P H)	
		H1'α	6.40 (dd)	7.2 (1'2') 6.6 (1'2'')	83
		H3'	5.00 (s)		
		H3C	1.35 (m)		
		H2CO	3.80 (s)		
		H-N	7.60 (m)		
		H-P	6.90 (d)	621.0 (P H)	
		H1β	5.35 (d)	3.6 (1 2) 9.5 (3 4)	87
		H3	3.50 (t)		
		H4	3.40 (m)		
		H5	3.48 (m)		
		H6a	3.89 (dd)	1.5 (5 6a) 12.5 (6a6b)	
		H6b	3.64 (dd)	10.5 (5 6b)	
		H1'α	6.40 (dd)	7.2 (1'2') 6.6 (1'2'')	85
		H3'	4.65 (s)		
		H3C	1.76 (s)		
		H2CO	3.80 (s)		
		H-N	7.80 (m)		
		H6	7.65 (m)		

[a] 5'-p,p'-Dimethoxytrityl. [b] Auswahl. Gemessen in D₂O bei 250 MHz im FT-Modus auf einem Bruker-WM-250-Spektrometer. [c] An isoliertem Produkt.

gen und ohne die Anwendung aufwendiger Schutzgruppenchemie in guten Ausbeuten zu Zuckerphosphonaten und -phosphaten.

Experimentelles

Allgemeine Vorschrift für die Phosphonylierung/Phosphorylierung: Äquimolare Mengen (0.02 mol) kristalliner Phosphon- oder Phosphorsäure, Glucose oder Nucleosid und Propylenoxid oder Epichlorhydrin wurden in 20 mL KOH-getrocknetem Pyridin gelöst. Nach einer Phase schwacher Erwärmung (30 min) wurde das Reaktionsgemisch 1 h bei 40 °C gerührt und anschließend zur Trockne eingedunstet. Der Rückstand (Rohprodukt) wurde im Fall der Glycosylderivate in Wasser gelöst und säulenchromatographisch an Dowex 1W-8X(OH⁻) mit 0.02 M NaCl und anschließend an Dowex 50W-8X(H⁺) (jeweils 1 × 30 cm-Säulen) mit Wasser gereinigt. Im Fall der DMT-Thymidyl-Derivate wurde der Rückstand in Chloroform gelöst und an Silicagel 60 (2.6 × 20 cm-Säule) mit einer Gradientenelution mit Chloroform-Methanol (0–20%) chromatographisch gereinigt.

Eingegangen am 16. Mai 1994 [Z 6940]

- [1] D. M. Brown, D. I. Magrath, A. H. Nielson, A. R. Todd, *Nature* **1956**, 177, 1124–1128.
- [2] O. Bailly, J. Gaume, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1936**, 2, 1396–1399.
- [3] M. R. Eftink, R. L. Biltonen, *Biochemistry* **1983**, 22, 5123–5134.
- [4] L. A. Heppel, P. R. Whitefield, R. Markham, *Biochem. J.* **1954**, 56, 34–38.
- [5] E. K. Bratovanova, V. Kasche, D. D. Petkov, *Biotechnol. Lett.* **1993**, 15, 347–352.
- [6] G. M. Tener, H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 5349–5351.
- [7] D. Herschlag, F. Eckstein, T. R. Cech, *Biochemistry* **1993**, 32, 8312–8321, 8299–8311.
- [8] E. P. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 544–584.
- [9] A. Kobata, *Acc. Chem. Res.* **1993**, 26, 319–405.
- [10] J. E. Marugg, M. Tromp, E. Kuyil-Yeheskiely, G. E. van der Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 2661–2664.

- [11] O. Sakatsume, H. Yamane, H. Takaku, N. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 6375–6378.
- [12] M. M. Sim, H. Kondo, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260–2267.
- [13] I. Devedjiev, V. Ganey, G. Borisov, L. Zabski, Z. Jedlinski, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1989**, 42, 167–170.
- [14] I. Devedjiev, G. Borisov, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1990**, 53, 37–42.
- [15] R. Breslow, *Chem. Soc. Rev.* **1972**, 1, 553–561.
- [16] D. Herschlag, F. Eckstein, T. R. Cech, *Biochemistry* **1993**, 32, 8312–8321.
- [17] A. J. Kirby, *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen*, Springer, Berlin, **1983**, S. 3.

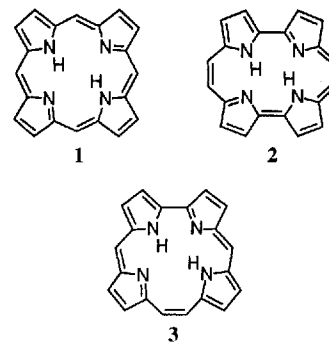
Corrphyen: ein neues Porphyrinisomer**

Jonathan L. Sessler*, Eric A. Brucker, Steven J. Weghorn, Michael Kisters, Martin Schäfer, Johann Lex und Emanuel Vogel*

Sir Derek Barton zum 75. Geburtstag gewidmet

Die Porphyrine, repräsentiert durch die Grundstruktur 1, [18]Porphyrin(1.1.1.1)^[1], wurden wegen ihrer Bedeutung in Chemie, Biologie und Medizin zum Gegenstand interdisziplinärer Forschung par excellence. Das vielseitige Interesse an diesen Tetrapyrrol-Makrocyclen inspirierte bereits in den sechziger Jahren Woodward^[2] und Johnson^[3] dazu, die Porphyrinchemie durch Design und Synthese von Porphyrin-Strukturvarianten zu erweitern, wobei ihnen das [18]Annulen-Modell des Porphyrins als konzeptioneller Leitfaden diente (Synthese von Sapphyrinen und Corrolen). Es ist zu einem guten Teil den Fortschritten bei den präparativen Methoden – biomimetischen Cyclisierungen^[4], reduktiven Carbonylkupplungen^[5] (McMurry-Reaktion) und anderen – zu verdanken, daß die Zahl neuer porphyrinoider Makrocyclen, von denen nicht wenige für praktische Anwendungen geeignet sein könnten, sich in den letzten Jahren geradezu dramatisch erhöht hat.

Das einfache Konzept, die Bauelemente des Porphyrins – vier Pyrrolkerne und vier Methineinheiten – unter Bildung von bis dahin völlig unbeachteten Porphyrin-Strukturisomeren zu reorganisieren, wurde 1986 mit der Synthese von [18]Porphyrin(2.0.2.0) 2^[6], dem Porphycen, erstmals experimentell verwirklicht. Angesichts der durch Spektren, Molekülstruktur und Metallkomplexbildung (Metalloporphycene) ausgewiesenen porphyrinoiden Natur von 2^[7] stellte sich zwangsläufig



[*] Prof. Dr. J. L. Sessler, E. A. Brucker, S. J. Weghorn
Department of Chemistry and Biochemistry
University of Texas at Austin
Austin, TX 78712 (USA)
Telefax: Int. + 512/471-7550
Prof. Dr. E. Vogel, Dipl.-Chem. M. Kisters, Dipl.-Chem. M. Schäfer, Dr. J. Lex
Institut für Organische Chemie der Universität
Greinstraße 4, D-50939 Köln
Telefax: Int. + 221/470-5102

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation (Grant CHE 9122161), der Alexander-von-Humboldt-Stiftung (J. L. S.) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (E. V.) gefördert. Die Autoren danken den Herren Dr. N. Jux, Dr. L. Neumann und R. Deponte für wertvolle Hinweise bei der Synthese des Corrphyens.