

160. Nucleotide. XV¹⁾. Synthese und Eigenschaften von 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytritylribonucleosid- 3'-phosphotriestern, Ausgangssubstanzen für Oligonucleotid-Synthesen

von Gunter Silber, Dieter Flockerzi, Rajendra Singh Varma, Ramamurthy Charubala, Eugen Uhlmann und
Wolfgang Pfeleiderer

Fakultät für Chemie der Universität Konstanz, Postfach 5560, D-7750 Konstanz

(1. IV. 81)

Nucleotides. XV. Synthesis and Properties of 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytritylribonucleoside-3'-phosphotriesters, Starting Materials for Oligonucleotide Syntheses

Summary

The syntheses of two types of fully blocked ribonucleoside 3'-phosphotriesters **6–14** have been achieved in excellent yields from 2'-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosides **1–5** by phosphorylation with 2-chloro- and 2,5-dichlorophenylphosphorodichloridate respectively and subsequent treatment by cyanoethanol to **6, 8, 10, 12** and **14** and by *p*-nitrophenylethanol to **7, 9, 11** and **13**. These phosphotriesters are valuable starting materials for oligonucleotide syntheses due to the fact that the corresponding phosphotriesters **15–23** with free HO-C(5') could be obtained by detritylation and the 3'-phosphodiester triethylammonium salts **24–32** by deblocking of the cyanoethyl and the 2,5-dichlorophenyl group respectively. All newly synthesized compounds have been characterized by UV- and NMR.-spectra as well as C, H, N elementary analyses.

1. Einleitung. – Seit den Pionierarbeiten von *Letsinger* [2] [3] *Eckstein* [4] [5], und *Reese* [6] erfreut sich die Phosphotriester-Methode immer grösserer Beliebtheit, so dass heute die Mehrzahl der chemischen Oligonucleotid-Synthesen nach diesem Verfahren [7–12] durchgeführt werden. Aus der Vielzahl der synthetischen Möglichkeiten hat sich in jüngster Zeit eine Strategie [13] [14] entwickelt, die sinnvollerweise von solchen vollgeschützten Nucleosid-3'-phosphotriestern als universell verwendbaren Ausgangssubstanzen startet, die durch ihre Schutzgruppenkombinatorik sowohl am HO-C(5') als auch am noch freien Phosphorsäure-Ende eine Kettenverlängerung erlaubt. Auf diese Weise beschränkt sich der Phosphorylierungsschritt lediglich auf die monomere Nucleosid-Einheit, wo er sich mit weit höherer Ausbeute als an einer wachsenden Oligonucleotid-Kette durchführen lässt. Da die erforderlichen Nucleosid-3'-phosphotriester zwei unterschiedlich stabile Phosphorsäure-Schutzgruppen aufweisen müssen, haben wir uns zunächst der Herstellung von

1) XIV. Mitt. s. [1].

2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3'-(*o*-chlorphenyl)(β -cyanoäthyl)phosphaten zugewandt, die nach der Einführung des *p*-Nitrophenyläthyls als Schutzgruppe des Phosphorsäureteils [1] auch durch die entsprechenden 3'-(2,5-Dichlorphenyl)(*p*-nitrophenyläthyl)phosphat-Derivate ergänzt bzw. ersetzt wurden.

2. Synthesen. – Für die Phosphorylierungen zu den fünf wichtigsten Ribonucleosid-3'-phosphotriestern des Adenosins, Guanosins, Cytidins, Uridins und 5,6-Dihydrouridins dienten die in einer früheren Arbeit [15] publizierten *N*-acylierten 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-Derivate **1**, **2** und **3** bzw. am Aglykon ungeschützten Analoga **4** und **5**. Die Phosphorylierung wurde zunächst am *N*⁶-Benzoyl-2'-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityladenosen (**1**) studiert und mit einem Gemisch aus *o*-Chlorphenylphosphorsäuredichlorid und 1,2,4-Triazol in der Weise durchgeführt, daß das als wahrscheinlichstes Intermediärprodukt [16] gebildete *o*-Chlorphenylphosphorsäure-bis-triazolid das eigentliche Phosphorylierungsmittel darstellt. Im ersten Schritt reagiert das Nucleosid mit dem 1,5fachen Überschuß an Phosphorylierungsmittel zunächst zum entsprechenden aktivierten Phosphodiestermonotriazolid ab, aus dem durch Zugabe des β -Cyanoäthanol als zweiter Alkohol-Komponente der gewünschte Phosphotriester, das *N*⁶-Benzoyl-2'-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityladenosen-3'-(β -cyanoäthyl)(*o*-chlorphenyl)phosphat (**6**) in Ausbeuten von 50–70% resultierte. Höhere Ausbeuten wurden erzielt, wenn man nach der Methode von *Cashion et al.* [17] arbeitet und zur Aktivierung des Phosphorsäuredichlorids ein (1:4)-Gemisch von 1,2,4-Triazol und *N*-Methylimidazol einsetzt. Die Optimierung der Reaktionsbedingungen und Ausbeuten wurde dadurch erreicht, dass mit absolut feuchtigkeitsfreien Reagentien und Geräten und unter Verwendung eines *o*-Chlorphenylphosphorsäuredichlorid 1,2,4-Triazol *N*-Methylimidazol-Verhältnisses von 1,2 : 4 : 16 pro Nucleosid-Äquivalent gearbeitet wurde. Entscheidend war ferner, dass das Nucleosid in Pyridin bei -20° bzw. -15°C zur gekühlten Lösung des aktivierten Phosphorylierungsreagens getropft wurde. Nach vollständigem Abreagieren des Ausgangsnucleosids setzt man das β -Cyanoäthanol zu und lässt die Lösung auf Raumtemperatur erwärmen zur Bildung des Phosphotriesters. Die Aufarbeitung erfolgt durch Aufnahme in Chloroform, Ausschütteln mit 0,1 M Phosphat-Puffer pH 7,0 und unmittelbarer Vorchromatographie über eine handgepackte Kieselgelsäule, da längeres Stehenlassen des Gemisches vor oder nach dem Ausschütteln zu erheblichen Ausbeuteverlusten führt. Die vollgeschützten Adenosin-(**6**) und Guanosin-phosphotriester (**8**), die durch GFS-Mitteldruck-Säulen auch weitgehend in die jeweiligen beiden Diastereomeren aufgetrennt werden können, fielen so in Ausbeuten von 95 bzw. 86% chromatographisch reinem Material an.

In der Pyrimidin-nucleosid-Reihe führte die Phosphorylierung in gleicher Weise zum Erfolg, und es konnten ausgehend vom 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-*N*⁶-benzoylcytidin (**3**), -uridin (**4**) und -5,6-dihydro-uridin (**5**) die entsprechenden 3'-(*o*-Chlorphenyl)(β -cyanoäthyl)phosphate **10** (92%), **12** (89%) und **14** (85%) in ebenfalls hohen Ausbeuten erhalten werden. Es empfiehlt sich hier, den Phosphorylierungsschritt bei 0° C und die Weiterreaktion mit Cyanoäthanol dann wieder bei Raumtemperatur vorzunehmen. Versuche, **10** nach der Phosphit-Metho-

und **13** vervollständigt. Hier zeigte es sich, daß der Zusatz von Methylimidazol gar nicht erforderlich ist, denn die Ausbeuten lagen ohne diese Hilfsbase durchweg etwas höher (im Bereich von 90%). Als viel entscheidender erwies sich hier wieder die Temperaturexführung sowie die rasche chromatographische Aufarbeitung des Ansatzes nach Abbruch der Reaktion.

Die 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3'-phosphotriester **6–14** dürfen als die eigentlichen Depotformen für Oligonucleotid-Synthesen angesehen werden, denn eine Kettenverlängerung über das 5'-Ende wird leicht nach Detritylierung und über das 3'-Phosphodiester-Ende nach Abspaltung der Cyanoäthyl- bzw. der 2,5-Dichlorphenyl-Gruppe möglich. Wir haben diese Bausteine, **15–23** bzw. **24–32**, im Rahmen dieser Untersuchungen ebenfalls hergestellt und ihre Strukturen durch Analysen und physikalisch-chemische Daten gesichert.

Für die Abspaltung der 5'-*O*-Monomethoxytrityl-Gruppe wurden neben der altbewährten 80proz. Essigsäure [20] auch Trifluoressigsäure-Lösungen verschiedener Konzentrationen in Chloroform und Methylenchlorid [21] sowie *p*-Toluolsulfonsäure in Methylenchlorid/Methanol [22] angewandt. Am verlustreichsten verliefen die Detritylierungen mit den Adenosin-phosphotriestern, da hier als unvermeidliche Nebenreaktion die säurekatalysierte partielle Debenzoylierung an der 6-Aminogruppe stattfindet. Die höchsten Ausbeuten aus **6** und **7** wurden mit 0,1 M bzw. 1- bis 2proz. Trifluoressigsäure in Methylenchlorid nach 30–60 Min. erhalten und **15** bzw. **16** in 91 bzw. 82% Ausbeute nach chromatographischer Isolierung gewonnen. Bei den Guanosin-phosphotriestern **8** und **9** lagen die Ausbeuten an den Derivaten **17** und **18** mit freiem HO-C(5') auch nur bei 85–90%, ohne dass hier die Natur einer möglichen Nebenreaktion erkannt bzw. gar ein weiteres Reaktionsprodukt gefasst und charakterisiert werden konnte. Mit 1- bis 2proz. *p*-Toluolsulfonsäure-Lösung in Methylenchlorid/Methanol gestaltete sich die Detritylierung in dieser Reihe etwas besser, und **17** konnte in 94% sowie **18** in 92% Ausbeute isoliert werden. Auch für die Pyrimidinnucleosid-3'-phosphotriester **10–14** erwies sich letzteres Detritylierungsreagens als überlegen und führte zu Ausbeuten an isoliertem, chromatographisch reinem Material von 90–95%. Die Anwendung von 2proz. Trifluoressigsäure in Methylenchlorid/Methanol zeigte bei den 5'-*O*-Monomethoxytrityluridin-3'-phosphotriestern mit 92% ein noch recht gutes Resultat, jedoch fiel in der Cytidin-Reihe bei der Überführung von **10** in **19** die Ausbeute auf 84%, und das noch labilere Dihydrouridinnucleotid **14** lieferte sogar nur 74% an **23**. Wir haben bei diesen Untersuchungen ferner festgestellt, dass sich die diastereomeren Phosphotriester mit freiem HO-C(5') bedeutend leichter auf chromatographischem Wege in die beiden stereoisomeren Komponenten zerlegen lassen, als dies in vereinzelt Fällen bei den entsprechenden 5'-*O*-Monomethoxytrityl-Derivaten möglich war.

Bei der Überführung der verschiedenen Ribonucleosid-3'-phosphotriester **6–14** in die entsprechenden 3'-Phosphodiester-triäthylammonium-Salze **24–32** haben wir uns zunächst mit der Abspaltung der Cyanoäthylgruppe beschäftigt, die nach *Narang* [23] mit Triäthylamin/Pyridin der β -Eliminierung unterliegt. Da selbst bei einem (1:1)-Gemisch dieses Reagenses eine noch recht lange Reaktionsdauer von 8–16 Std. bis zur quantitativen Abspaltung beobachtet wurden, konnte durch Zusatz von ca. 10 Vol.% Wasser eine starke Verkürzung auf 1–2 Std. erreicht werden.

Die Reaktionsprodukte, die im DC. in Methanol/Triäthylamin-haltigen Solventien chromatographiert und eluiert werden konnten, liefen als einheitliche Flecken. Sie wurden meist über handgepackte Kieselgelsäulen mit einem Solvensgemisch aus Methylenchlorid/Methanol/Triäthylamin bzw. Chloroform/Äthanol/Triäthylamin gereinigt. Die Hauptfraktion wird zunächst i. RV. eingedampft, wobei es sich empfiehlt, den Rückstand – zur Entfernung von zäh anhaftendem Triäthylamin – mehrmals in Benzol oder Toluol aufzunehmen und die entsprechende Lösung jeweils einzudampfen. Dann wird der Rückstand in möglichst wenig Chloroform gelöst und die Diester-Salze durch langsames Eintropfen in intensiv gerührtes Hexan oder Hexan/Äther 9:1 in Form farbloser amorpher Feststoffe ausgefällt. Die Substanzen sind nach längerem Trocknen i. V. über P_2O_5 im Tiefkühlfach längere Zeit beständig, zeigen dann aber mitunter nach mehreren Monaten spurweise Detrylierungen an. Problematisch gestalteten sich die C,H,N-Elementaranalysen, die keine allzu gute Übereinstimmung mit den theoretisch erwarteten Werten lieferten, obwohl chromatographische Reinheit und eindeutige NMR.-Spektren für die Einheitlichkeit der Produkte sprechen. Als bestes Charakterisierungskriterium erwiesen sich daher die UV.-Spektren im Vergleich zum analysenreinen entsprechenden Phosphotriester, wobei sowohl in der Bandenlage als auch den Extinktionswerten hohe Übereinstimmung resultierte (*Tab. 1*).

Um die 2,5-Dichlorphenyl-Schutzgruppe der Phosphotriester **7**, **9**, **11** und **13** abzuspalten, bedienten wir uns der Oximat-Methode von Reese [24], in dem die 10fache Menge an *p*-Nitrobenzaloxim in Triäthylamin/Dioxan/Wasser 1:1:1 zur Anwendung kam. Die Hydrolyse zu den Phosphodiestern **25**, **27**, **29** und **31** ist unter diesen Reaktionsbedingungen bei Raumtemperaturen normalerweise nach 2–3 Std. komplett, und die gewünschten Reaktionsprodukte werden auf chromatographischem Wege über eine Kieselgelsäule gewonnen. Es ist hierbei wichtig, dass nach Einengen des Gemisches zunächst mit einem Gradienten reines Chloroform bis Chloroform/Methanol bzw. Chloroform/Äthanol 95:5 das *p*-Nitrobenzaloxim und *p*-Nitrobenzonnitril abgetrennt und danach dann der Phosphodiester ebenfalls durch Gradientenelution mit Chloroform/Methanol/Triäthylamin bzw. Chloroform/Äthanol/Triäthylamin 90:5:5 → 60:20:20 eluiert wird. Das Ausfällen der Phosphodiester-triäthylammonium-Salze in Hexan führt zu farblosen amorphen Feststoffen, die durch Trocknen bei 50°C in der Trockenpistole über P_2O_5 i. V. definierte Produkte in wasserfreier Form oder als Hydrate in hoher Ausbeute und mit gut stimmenden Elementaranalysen liefern.

3. Physikalische Eigenschaften. – Die Isolierung und Reinigung der neu hergestellten Verbindungen **6–32** erfolgte im allgemeinen auf säulenchromatographischem Wege, wobei entweder handgepackte Kieselgelsäulen oder präparative Fertigsäulen zum Arbeiten unter mässigem Druck [15] eingesetzt wurden. Die so gewonnenen amorphen Feststoffe wurden nach dünnschichtchromatographischer Prüfung auf Reinheit in mehreren Systemen der C,H,N-Elementaranalyse unterworfen. Die weitere Charakterisierung erfolgte dann auf spektroskopischem Wege durch Aufnahme der UV.- und NMR.-Spektren. Von letzteren sind in *Tabelle 1* nur die aussagekräftigsten Signale festgehalten, zumal es sich bei den 3'-Phosphotriestern **6–14** und **15–23** jeweils um Diastereomeregemische handelt,

deren Komponenten in bestimmten Bereichen sehr ähnliche, jedoch nicht identische chemische Verschiebungen zeigen. Da selbst mit der sehr effektiven präparativen Mitteldruckchromatographie keine quantitative Trennung bei einmaliger Chromatographie möglich war, wurde meist in der Weise verfahren, dass zunächst ein Teil des schneller wandernden Diastereomeren I, dann eine Mittelfraktion bestehend aus beiden Komponenten und nachlaufend wieder eine reine Fraktion des Diastereomeren II gewonnen wurde. Derartige Trennungen sind verständlicherweise mehr von akademischem Interesse und erlauben verschiedene Feinstrukturuntersuchungen an den jeweiligen stereoisomeren Formen, während jedoch in präparativ-synthetischer Hinsicht die Diastereomerenmischungen voll und ganz ihrem Zwecke als universell verwendbare Monomeren-Bausteine für Oligonucleotid-Synthesen gerecht werden.

Wir danken dem *Fonds der chemischen Industrie* für ein Doktoranden-Stipendium, der *Alexander von Humboldt-Stiftung* für ein Forschungsstipendium und beiden Organisationen für zusätzliche finanzielle Hilfe. Ferner gilt unser Dank Frau *M. Bischler* für die Aufnahme der UV.- und Herrn *E. Krienitz* für diejenige der NMR.-Spektren.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. – Die UV.-Spektren wurden mit einem *Cary*-Recording-Spektrometer, Modell 118 der Fa. *Appl. Physics*, und die ^1H -NMR.-Spektren mit dem *Bruker*-Gerät HFX-90 aufgenommen. Die chromatischen Untersuchungen erfolgten auf Dünnschichtfolien Kieselgel F 1500 LS 254 der Fa. *Schleicher & Schüll*. Für die Säulenchromatographie diente *Merck* Kieselgel 60 (70–230 mesh) für handgepackte Säulen [15] und Kieselgel *LiChroPrep* Si 60 (15–25 μ) für die präparativen, selbst hergestellten Fertigsäulen vom Typ B (250 \times 24 mm) und Typ C (400 \times 39,5 mm). Ihre Präparierung, Konditionierung und Charakterisierung durch die Bestimmung der theoretischen Bodenzahl ist ausführlich in [25] beschrieben. Die präp. Mitteldruckchromatographie wurde im allgemeinen bei 8–10 Bar durchgeführt. Das Trocknen der Substanzen bei RT. bis maximal 50° erfolgte über P_2O_5 i. v. im Gerät TO-50 der Fa. *Büchi*. Schmelzpunkte werden nicht angegeben, da keine Anstrengungen unternommen wurden, die chromatographisch reinen, amorphen Festsubstanzen zur Kristallisation zu bringen.

2. Allgemeine Herstellungsverfahren für Ribonucleosid-3'-phosphoriester. – 2.1 (*2'-O-t-Butyldimethylsilyl-5'-O-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3'*)(*o*-chlorphenyl)(β -cyanoäthyl)phosphate **6**, **8**, **10**, **12** und **14**. Zu 5,26 g (64 mmol) *N*-Methylimidazol und 1,1 g (16 mmol) 1,2,4-Triazol im 10 ml abs. Pyridin werden in einem ausgeheizten Kolben unter Begasung mit trockenem N_2 mit einer Spritze 1,18 g (4,8 mmol) *o*-Chlorphenylphosphorsäuredichlorid bei RT. gesetzt. Die Lösung wird bis zur vollständigen Auflösung des gebildeten Niederschlages gerührt und dann auf die Phosphorylierungstemp. von 0° bis –20° abgekühlt. Im Laufe von 5 Min. wurde dann die Lösung von 4 mmol des geschützten Ausgangsribonucleosids **1–5** in 5–10 ml abs. Pyridin zugegeben und die Reaktion chromatographisch bis zum Verschwinden der Ausgangssubstanz verfolgt. Dann werden 1,14 g (16 mmol) β -Cyanoäthanol zugegeben, die Reaktionslösung auf RT. erwärmt und bis zum Verschwinden des Phosphodiester-Flecks (im DC.) gerührt. Der Ansatz wird dann zwischen 3mal 300 ml Chloroform und je 3mal 500 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,0 verteilt, die vereinigte organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, eingengt und mehrfach mit Benzol wieder eingedampft. Der verbleibende Sirup wird dann unmittelbar über eine handgepackte Kieselgelsäule (30 \times 2 cm) zunächst mit 1 l Methylenchlorid und dann mit etwas polarerer Lösungsmittel-Gemischen chromatographiert. Die Hauptfraktion wird gesammelt und liefert beim Einengen einen amorphen Feststoff, der meist schon chromatographisch rein ist. Er wird zur Überführung in eine leichter handhabbare Form wieder in wenig Chloroform oder Methylenchlorid gelöst und unter intensivem Rühren in 500 ml Hexan eingetropfelt. Der farbenlose flockige Niederschlag wird in einem *Büchner*-Trichter gesammelt und anschliessend i. HV. bei 50° über P_2O_5 getrocknet. Zur weiteren Reinigung bzw. partiellen Auftrennung in die beiden diastereomeren Komponenten chromatographiert man in drei Teilmengen über

Tabelle 1. Physikalische Daten von Ribonucleosid-3'-phosphotri- und -diestern

	UV.-Absorptionsspektrum in MeOH		1H-NMR.-Spektrien (δ -Werte in ppm)						Lösungs- mittel				
	λ_{\max} (nm)	lg ϵ	I'-H (1)	$J_{1',2'}$ (Hz)	OCH ₃ (3)	C(CH ₃) ₃ (9)	CH ₃ SiCH ₃ (6)						
6	I	232 [260]	278	4,48	[4,20]	4,39	6,12 d	6,7	3,78 s	0,74 s	-0,01 s;	-0,24 s	CDCl ₃
	II						6,15 d	6,7	3,76 s	0,73 s	-0,03 s;	-0,22 s	CDCl ₃
24	I	232 [259]	277	4,53	[4,19]	4,38	6,13 d	6,9	3,72 s	0,63 s	-0,06 s;	-0,18 s	CDCl ₃
	II						6,00 m	-	-	0,71 s	-0,14 s;	-0,35	CDCl ₃
15	I	[230]	278	[4,14]	[4,11]	4,39				0,72 s	-0,12 s;	-0,35	CDCl ₃
	II						6,07 d	6,3	3,74 s	0,71 s	-0,05 s;	-0,27 s	CDCl ₃
7	I	[277]	278	[4,61]	[3,68]	4,51	6,10 d	6,3	3,74 s	0,68 s	-0,08 s;	0,27 s	CDCl ₃
	II						6,10 m		3,70 s	0,86 s	-0,2 m		CDCl ₃
25	I	278		4,51		4,51							CDCl ₃
	II						5,84 d	8,0	-	0,68 s	-0,16 s;	-0,41 s	CDCl ₃
16	I	278		4,50		4,50				0,69 s	-0,20 s		CDCl ₃
	II						5,95 m		3,73 s	0,70 s	-0,03 s;	-0,23 s	DMSO-d ₆
8	I	236 255 260	260	4,28	4,28	4,28	6,08 d	7,0	3,75 s	0,65 s	-0,05 s;	-0,15 s	DMSO-d ₆
	II	[274] [281]		[4,15]	[4,14]								DMSO-d ₆
26	I	234 255 259	259	4,27	4,27	4,27							DMSO-d ₆
	II	275		4,15									DMSO-d ₆
17	I	255 259	259	4,24	4,24	4,24	5,93 d	7,6	-	0,68 s	-0,19 s;	-0,25 s	DMSO-d ₆
	II	[274] [280]		[4,06]	[4,09]		5,94 d	8,5	-	0,65 s	-0,10 s;	0,26 s	DMSO-d ₆
9	I	228 [273]	260	4,47	4,44	4,44	5,94 d	8,0	3,72 s	0,65 s	-0,08 s;	0,09 s	DMSO-d ₆
	II	[278]		[4,38]	[4,37]								DMSO-d ₆
27	I	235 261	261	4,29	4,41	4,41	6,06 d	8,5	3,74 s	0,65 s	-0,05 s;	-0,20 s	DMSO-d ₆
	II	[275] [280]		[4,36]	[4,34]								DMSO-d ₆
18	I	228 [272]	261	4,21	4,38	4,38	5,90 d	8,2	-	0,64 s	-0,13 s;	-0,29 s	DMSO-d ₆
	II	[280]		[4,32]	[4,29]								DMSO-d ₆

10		231	261	305	4,41	4,29	3,85	5,91 <i>d</i>	4,2	3,75 <i>s</i>	0,83 <i>s</i>	0,09 <i>s</i> ;	0,05 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
28		233	261	305	4,40	4,37	4,01	5,82 <i>d</i>	2,9	3,75 <i>s</i>	0,85 <i>s</i>	0,11 <i>s</i> ;	0,08 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
19	I		260	304		4,42	4,01	6,01 <i>d</i>	5,3	–	0,08 <i>s</i>	0,02 <i>s</i> ;	0,00 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
	II							5,97 <i>d</i>	5,0	–	0,83 <i>s</i>	0,04 <i>s</i>		DMSO- <i>d</i> ₆
11	I	[230]	263	[304]	[4,54]	4,51	[4,09]	6,08 <i>d</i>	4,1	3,79 <i>s</i>	0,86 <i>s</i>	0,18 <i>s</i> ;	0,09 <i>s</i>	CDCl ₃
	II	[232]	262	[300]	[4,44]	4,51	[4,14]	5,98 <i>d</i>	2,6	3,79 <i>s</i>	0,88 <i>s</i>	0,16 <i>s</i> ;	0,08 <i>s</i>	CDCl ₃
29		[230]	262	[302]	[4,32]	4,54	[4,10]	5,91 <i>br</i>		3,72 <i>s</i>	0,82 <i>s</i>	0,11 <i>s</i> ;	0,08 <i>s</i>	CDCl ₃
20								5,61 <i>m</i>		–	0,86 <i>s</i>	0,10 <i>s</i> ;	0,04 <i>s</i>	CDCl ₃
												0,13 <i>s</i> ;	0,04 <i>s</i>	CDCl ₃
12		232	261		4,22	4,04		6,01 <i>d</i>	5,6	3,77 <i>s</i>	0,88 <i>s</i>	0,12 <i>s</i>		CDCl ₃
											0,85 <i>s</i>	0,10 <i>s</i>		CDCl ₃
30		231	264		4,21	4,04		6,05 <i>d</i>	5,0	3,77 <i>s</i>	0,91 <i>s</i>	0,00 <i>s</i>		CDCl ₃
21			260			4,03		5,66 <i>d</i>	4,0	–	0,85 <i>s</i>	0,08 <i>s</i> ;	0,04 <i>s</i>	CDCl ₃
13	I	[228]	264		[4,49]	4,30		5,84 <i>d</i>	6,1	3,74 <i>s</i>	0,76 <i>s</i>	–0,02 <i>s</i>		DMSO- <i>d</i> ₆
	II	[228]	264		[4,49]	4,30		5,87 <i>d</i>	6,3	3,73 <i>s</i>	0,79 <i>s</i>	0,00 <i>s</i>		DMSO- <i>d</i> ₆
31		[230]	265		[4,27]	4,29		5,84 <i>d</i>	6,6	3,74 <i>s</i>	0,81 <i>s</i>	0,06 <i>s</i> ;	0,04 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
22		[228]	264		4,00	4,30		5,92 <i>d</i>	7,3	–	0,78 <i>s</i>	–0,03 <i>s</i> ;	–0,06 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
											0,73 <i>s</i>			DMSO- <i>d</i> ₆
14	I	[230]	265	[272]	[4,21]	3,33	[3,30]	5,78 <i>d</i>	7,0	3,74 <i>s</i>	0,85 <i>s</i>	0,10 <i>s</i>		DMSO- <i>d</i> ₆
	II	[280]			[3,15]			5,81 <i>d</i>	6,8	3,74 <i>s</i>	0,83 <i>s</i>	0,09 <i>s</i> ;	0,08 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
32		[230]	269	274	[4,28]	3,38	3,36	5,80 <i>d</i>	6,8	–	0,85 <i>s</i>	0,11 <i>s</i>		DMSO- <i>d</i> ₆
23	I	[260]	265	272	[2,96]	3,04	2,93	5,78 <i>d</i>	7,3	3,74 <i>s</i>	0,84 <i>s</i>	0,08 <i>s</i> ;	0,07 <i>s</i>	DMSO- <i>d</i> ₆
	II							5,28 <i>d</i>	7,4	–	0,08 <i>s</i>	0,05 <i>s</i>		DMSO- <i>d</i> ₆

[] = Schulter; *s* = Singulett; *d* = Dublett; *m* = Multiplett; *br.* = breit;

Tabelle 2. *Synthese und analytische Daten von 2'-O-t-Butyldimethylsilyl-*

Nucleosid	Rkt. Dauer für Phosphorylierung, Temp. [°C]	Rk.-Dauer für Phosphotri- ester-Bildung Std.	Chromatographie-System für Säulentrennung	Ausbeute		
				g	%	
1	3,03	10 Min. -20°	5	CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 95:5	3,81 (95)	6
2	2,96	90 Min. -15°	3,5	CH ₂ Cl ₂ / <i>n</i> -C ₆ H ₁₄ 4:1 → CH ₂ Cl ₂ /MeOH 100:1 → 100:5	3,40 (86)	8
3	2,94	30 Min. 0°	3,5	CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 85:15	3,61 (92)	10
4	2,52	60 Min. 0°	3	CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 7:3	3,10 (89)	12
5	2,53	120 Min. 0°	4	CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 7:3	2,98 (85)	14
1	1,52	60 Min. 0°	3	CHCl ₃	1,97 (87)	7
2	1,98	45 Min. 0°	17	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 97:3	1,88 (92)	9
3	1,46	60 Min. 0°	18	CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 7:3	2,04 (92)	11
4	1,26	60 Min. 0°	16	CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 4:1	1,85 (92)	13

eine GFS-Säule, Typ C (N = 9000) mit Methylenchlorid/Essigester 4:1 für **6** und **12**, mit Methylenchlorid/Methanol 200:1 → 100:1 für **8**, mit Methylenchlorid/Essigester 9:1 für **10** und Methylenchlorid/Essigester 85:15 für **14**.

2.2. (*N*⁶-Benzoyl-2'-O-t-butyldimethylsilyl-5'-O-monomethoxytrityl-cytidin-3')(*o*-chlorphenyl)(*β*-cyanoäthyl)phosphat **10**. Die Lösung von 0,138 ml (1,2 mmol) 2,6-Lutidin und 0,047 ml (0,3 mmol) *o*-Chlorphenylphosphorsäuredichlorid in 0,5 ml abs. Tetrahydrofuran (THF) wurde auf -78° gekühlt und dann unter Rühren im Laufe von 5 Min. mit der Lösung von 0,183 g (0,25 mmol) **3** in 1 ml abs. THF tropfenweise und nach 30 Min. mit 0,15 ml (2,25 mmol) *β*-Cyanoäthanol versetzt. Nach weiteren 45 Min. wurde mit einer Lösung von 0,076 g (0,3 mmol) Jod und 0,07 ml 2,6-Lutidin in 2 ml THF/Wasser 2:1 bei -30° oxydiert. Anschliessend wurde das Gemisch zwischen 3mal 100 ml Chloroform verteilt, einmal mit 100 ml 5proz. Natriumhydrogensulfat-Lösung und 2mal mit je 100 ml Wasser extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und zum Sirup eingedampft. Der Rückstand wurde über eine handgestopfte Kieselgelsäule (16 × 2,5 cm) mit Methylenchlorid/Essigester 7:3 chromatographiert, nach Einengen der Hauptfraktion wurden 0,131 g (54%) farbloser amorpher Feststoff erhalten.

2.3 (2'-O-t-Butyldimethylsilyl-5'-O-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3')(2,5-dichlorphenyl)(2-(*β*-nitrophenyl)äthyl)phosphat **7**, **9**, **11** und **13**. Die Lösung von 0,45 g (6,5 mmol) 1,2,4-Triazol in 5 ml abs. Pyridin wurde mit 0,84 g (3 mmol) 2,5-Dichlorphenylphosphorsäuredichlorid versetzt und 20–30 Min. bei RT. gerührt. Ungeachtet des abgeschiedenen Niederschlags wird auf 0° gekühlt und dann im Laufe von 40 Min. 2 mmol des geschützten Ausgangsnucleosids **1–4** in fester Form portionenweise zugesetzt. Nach ca. 1 Std. Rühren bei tiefer Temp. wird auf RT. erwärmen gelassen (30 Min.), gibt dann 0,67 g (4 mmol) 2-(*p*-Nitrophenyl)äthanol [1] zu und setzt die Reaktion unter Rühren fort, bis dünnschichtchromatographisch hauptsächlich Phosphotriester und nur noch wenig Diester nachgewiesen wird. Das Gemisch wird i. RV. eingengt, der ölige Rückstand in 25 ml Chloroform aufgenommen und dann mehrmals mit 5 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird die organische Phase eingengt, mehrfach mit Chloroform

5'-O-monomethoxytritylribonucleosid-3'-phosphotriester

Summenformel	Molmasse	Analyse					
			% C	% H	% N	% Cl	% P
C ₅₂ H ₅₄ ClN ₆ O ₉ PSi	1001,6	Ber.	62,36	5,44	8,39	3,54	
		Gef.	61,95	5,72	8,68	3,49	
C ₄₉ H ₅₆ ClN ₆ O ₁₀ PSi	983,5	Ber.	59,84	5,74	8,54	3,60	3,15
		Gef.	59,87	5,81	8,75	3,43	3,23
C ₅₁ H ₅₄ ClN ₄ O ₁₀ PSi	977,5	Ber.	62,66	5,57	5,73		
		Gef.	62,91	5,79	5,66		
C ₄₄ H ₄₉ ClN ₃ O ₁₀ PSi	874,4	Ber.	60,44	5,65	4,81		
		Gef.	60,03	5,86	4,49		
C ₄₄ H ₅₁ ClN ₃ O ₁₀ PSi	876,4	Ber.	60,30	5,87	4,79		
		Gef.	59,87	6,02	4,97		
C ₅₇ H ₅₇ Cl ₂ N ₆ O ₁₁ PSi	1132,1	Ber.	60,48	5,08	7,42		
		Gef.	60,28	4,91	7,40		
C ₅₄ H ₅₉ Cl ₂ N ₆ O ₁₂ PSi	1114,1	Ber.	58,22	5,34	7,54		
		Gef.	58,09	5,30	7,50		
C ₅₆ H ₅₇ Cl ₂ N ₄ O ₁₁ PSi	1108,1	Ber.	60,70	5,18	5,05		
		Gef.	60,62	5,54	4,74		
C ₄₉ H ₅₂ Cl ₂ N ₃ O ₁₂ PSi	1004,9	Ber.	58,56	5,22	4,18		
		Gef.	58,41	5,20	4,20		

eingedampft, wobei das Rohprodukt in Form eines festen Schaums anfällt. Er wird in wenig Chloroform gelöst, auf eine handgepackte Kieselgelsäule (30 × 2 cm) aufgegeben und dann zunächst zur Abtrennung von überschüssigem *p*-Nitrophenyläthanol mit Chloroform/Hexan 4 : 1 chromatographiert. Der gesuchte Phosphotriester wird anschliessend mit Chloroform allein oder einem etwas stärker polaren Lösungsmittelgemisch eluiert. Durch Einengen der Hauptfraktion wird ein farbloser Schaum erhalten, der aus wenig Chloroform umgelöst und dann unter intensivem Rühren in 100 ml Hexan eingetropfelt wird. Der flockige Niederschlag wird in einem Büchner-Trichter gesammelt und bei 50° i. V. über P₂O₅ getrocknet.

3. Allgemeine Synthese von 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-ribonucleosid-3'-phosphotriestern 15–23. Die Lösung von 1,0 mmol 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3'-phosphotriester 6–14 in a) 50–100 ml 1- bis 2proz. Trifluoressigsäure in abs. Methylenchlorid und 4 ml abs. Methanol oder b) 50–100 ml einer 1- bis 2proz. Lösung von *p*-Toluolsulfonsäure in Methylenchlorid/Methanol 7 : 3 wird 1 Std. bei RT. gerührt und das völlige Verschwinden des Ausgangsproduktes durch DC. geprüft. Nach Verdünnen mit 100 ml Chloroform oder Methylenchlorid und 2mal Ausschütteln mit je 100 ml 0,1 M Phosphat-Puffer pH 7, wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und i. RV. i. V. eingedampft. Der meist sirupöse Rückstand bzw. Schaum wird in wenig Methylenchlorid gelöst, auf eine handgepackte Kieselgelsäule (2 × 10 cm) aufgegeben und dann zunächst mit reinem Methylenchlorid bzw. Chloroform, gefolgt von einem polaren Gemisch aus Methylenchlorid/Methanol bzw. Chloroform/Methanol chromatographiert, wobei sich das gesuchte Produkt in der polaren Lösungsmittelfraktion befindet. Die Hauptfraktion wird dann eingedampft, der Rückstand in wenig Methylenchlorid gelöst und diese Lösung langsam unter Rühren in Hexan eingetropfelt; es wird so ein gut filtrierbarer Niederschlag gewonnen, der i. V. über P₂O₅ getrocknet wird. Sofern erforderlich, kann eine weitere Reinigung und auch die partielle Auftrennung in die beiden diastereomeren Phosphotriester durch präp. Mitteldruckchromatographie über eine GFS-Säule, Typ B (N=7000) mit einem steigenden Gradienten von Methylenchlorid/Methanol 99,2 : 0,8 → 98 : 2 erreicht werden. Beide Diastereomeren ergaben im präp. Massstab keine vollständige Ba-

Tabelle 3. *Synthese und analytische Daten von*

Ausgangs- produkt g	Reagens	ml	Chromatographie-System für Säulentrennung
6 1,00	2% TFA CH ₂ Cl ₂ /MeOH 10:1	50	1) CH ₂ Cl ₂ 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 97:3
7 1,13	1% TFA CHCl ₃	50	1) CHCl ₃ 2) CHCl ₃ /MeOH 98:2
8 0,98	2% <i>p</i> -TsOH CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7:3	20	1) CH ₂ Cl ₂ 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 98:2
9 1,11	2% <i>p</i> -TsOH CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7:3	20	1) CHCl ₃ 2) CHCl ₃ /MeOH 99:1
10 0,98	2% <i>p</i> -TsOH CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7:3	100	1) CH ₂ Cl ₂ 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 9:1
11 1,11	2% <i>p</i> -TsOH CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7:3	20	1) CHCl ₃ 2) CHCl ₃ /MeOH 98:2
12 0,87	2% TFA CH ₂ Cl ₂ /MeOH 10:1	100	1) CH ₂ Cl ₂ 2) CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 1:1
13 1,0	2% <i>p</i> -TsOH CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7:3	100	1) CH ₂ Cl ₂ 2) CH ₂ Cl ₂ /EtOAc 2:3
14 0,88	1% <i>o</i> -TsOH CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7:3	100	1) CH ₂ Cl ₂ 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 1:1

Tabelle 4. *Synthese und analytische Daten von 2'-O-t-Butyldimethylsilyl-*

Ausgangs- substanz g	Reaktionsdauer Std.	Chromatographie-System für Säulentrennung
6 1,00	1	1) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 200:1 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH/Et ₃ N 1000:25:7
8 0,98	2	1) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 200:1 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH/Et ₃ N 1000:15:7
10 0,98	2	1) CHCl ₃ /MeOH 100:1 2) CHCl ₃ /MeOH/Et ₃ N 100:2:1
12 0,87	2	1) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 100:1 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH/Et ₃ N 100:2:1
14 0,88	2	1) CHCl ₃ /MeOH 200:1 2) CHCl ₃ /MeOH/Et ₃ N 200:2:1
7 1,13	2,5	1) CH ₂ Cl ₂ /EtOH 95:5 2) CH ₂ Cl ₂ /EtOH/Et ₃ N 90:5:5 → 60:20:20
9 1,11	3	1) CHCl ₃ /MeOH 90:2 2) CHCl ₃ /MeOH/Et ₃ N 90:5:5 → 90:10:10
11 1,11	3	1) CHCl ₃ /MeOH 98:2 2) CHCl ₃ /MeOH/Et ₃ N 90:5:5
13 1,0	3	1) CH ₂ Cl ₂ /MeOH 98:2 2) CH ₂ Cl ₂ /MeOH/Et ₃ N 90:5:5

2'-O-t-Butyldimethylsilyl-ribonucleosid-3'-phosphotriester

Reaktionsprodukt Ausbeute	Summenformel	Molmasse	Analyse		
			% C	% H	% N
g %					
15 0,66 (91)	C ₃₂ H ₃₈ ClN ₆ O ₈ PSi	729,2	Ber. 52,71 Gef. 52,53	5,25 5,21	11,52 11,51
16 0,70 (82)	C ₃₇ H ₄₁ Cl ₂ N ₆ O ₁₀ PSi	859,7	Ber. 51,69 Gef. 51,63	4,81 4,80	9,77 9,74
17 0,67 (94)	C ₂₉ H ₄₀ ClN ₆ O ₉ PSi	711,2	Ber. 48,98 Gef. 49,08	5,67 5,83	11,82 11,72
18 0,75 (92)	C ₃₄ H ₄₃ Cl ₂ N ₆ O ₁₁ PSi	841,8	Ber. 48,52 Gef. 48,47	5,15 5,09	9,98 9,68
19 0,66 (90)	C ₃₁ H ₃₈ ClN ₄ O ₉ PSi	705,2	Ber. 52,80 Gef. 52,75	5,43 5,33	7,95 7,98
20 0,78 (94)	C ₃₆ H ₄₁ Cl ₂ N ₆ O ₁₁ PSi	835,7	Ber. 51,74 Gef. 51,90	4,95 4,95	6,70 6,64
21 0,55 (92)	C ₂₄ H ₃₃ ClN ₃ O ₉ PSi	602,1	Ber. 47,88 Gef. 47,54	5,35 5,32	6,98 7,01
22 0,69 (94)	C ₂₉ H ₃₆ Cl ₂ N ₃ O ₁₁ PSi	732,6	Ber. 47,55 Gef. 47,73	4,95 4,96	5,74 5,72
23 0,56 (93)	C ₂₄ H ₃₅ ClN ₃ O ₉ PSi	604,0	Ber. 47,72 Gef. 47,70	5,84 5,91	6,96 7,11

5'-O-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3'-phosphodiester-triäthyl-ammonium-Salzen

Reaktionsprodukt Ausbeute	Summenformel	Molmasse	Analyse		
			% C	% H	% N
g %					
24 1,00 (96)	C ₅₅ H ₆₆ ClN ₆ O ₉ PSi · H ₂ O	1067,7	Ber. 61,87 Gef. 61,69	6,42 6,17	7,87 7,52
26 1,01 (98)	C ₅₂ H ₆₈ ClN ₆ O ₁₀ PSi · H ₂ O	1049,7	Ber. 59,53 Gef. 59,16	6,73 6,81	8,01 8,02
28 1,02 (99)	C ₅₄ H ₆₆ ClN ₄ O ₁₀ PSi · H ₂ O	1043,7	Ber. 62,14 Gef. 62,45	6,56 6,49	5,36 5,64
30 0,89 (96)	C ₄₇ H ₆₁ ClN ₃ O ₁₀ PSi	922,529	Ber. 61,19 Gef. 61,41	6,66 6,68	4,55 4,43
32 0,92 (99)	C ₄₇ H ₆₃ ClN ₃ O ₁₀ PSi · H ₂ O	942,6	Ber. 59,89 Gef. 57,85	6,73 6,18	4,46 3,90
25 1,02 (94)	C ₅₇ H ₇₂ N ₇ O ₁₂ PSi · H ₂ O	1106,3	Ber. 61,88 Gef. 62,12	6,56 6,35	8,86 8,83
27 1,02 (95)	C ₅₄ H ₇₂ N ₇ O ₁₂ PSi	1070,3	Ber. 60,60 Gef. 61,08	6,78 7,06	9,16 8,87
29 1,01 (93)	C ₅₆ H ₇₀ N ₅ O ₁₃ PSi · H ₂ O	1082,3	Ber. 62,15 Gef. 62,25	6,71 7,01	6,47 6,64
31 0,94 (98)	C ₄₉ H ₆₅ N ₄ O ₁₂ PSi	961,1	Ber. 61,23 Gef. 61,05	6,81 6,98	5,83 5,73

se-line-Trennung, so dass die reinen Komponenten lediglich aus den ersten bzw. letzten Fraktionen gewonnen werden konnten.

4. Allgemeine Synthese von (Triäthylammonium)(2'-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3')(*o*-chlorphenyl)phosphaten 24, 26, 28, 30 und 32. Rühren von 1 mmol 2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3')(*o*-chlorphenyl)(β -cyanoäthyl)phosphat 6, 8, 10, 12 und 14 in 20,2 ml Pyridin/Triäthylamin/Wasser 10 : 10 : 0,2 für ca. 1–2 Std. bis zum völligen Verschwinden des Phosphotriester-Flecks. Einengen und 4mal wieder einengen mit insgesamt 20 ml Toluol liefern einen festen Schaum, der, in wenig Methylenchlorid gelöst, auf eine Kieselgelsäule (20 \times 1 cm) aufgegeben und dann mit Gemischen aus Methylenchlorid/Methanol/Triäthylamin chromatographiert wird. Die Hauptfraktion wird eingengt, in wenig Methylenchlorid aufgenommen und dann unter Rühren in Hexan eingetropt. Der farblose voluminöse Niederschlag wird abgesaugt und i. V. über P₂O₅ bei 50° getrocknet.

5. Allgemeine Synthese von (Triäthylammonium)(2'-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3')(2-(*p*-nitrophenyl)äthyl)phosphaten 25, 27, 29 und 31. Es wird 1 mmol (2'-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-5'-*O*-monomethoxytrityl-ribonucleosid-3')(2,5-dichlorphenyl) (2-(*p*-nitrophenyl)äthyl)phosphat 7, 9, 11 bzw. 13 mit der Lösung von 1,66 g (10 mmol) *p*-Nitrobenzaldehyd in 60 ml Triäthylamin/Dioxan/Wasser 1 : 1 : 1 versetzt und dann bei RT. bis zum Verschwinden des Phosphotriesters (im DC.) gerührt und die Lösung eingedampft. Nach 2mal Eindampfen mit je 20 ml abs. Pyridin und dann noch 2mal mit je 20 ml Toluol wird als Rückstand ein fester Schaum erhalten, der in wenig Chloroform gelöst und durch eine Kieselgelsäule (12 \times 2 cm) zunächst mit reinem Chloroform, dann mit Chloroform/Methanol 95 : 5 und schliesslich mit Chloroform/Methanol/Triäthylamin 90 : 5 : 5 bzw. steigenden Gradienten bis 60 : 20 : 20 chromatographiert wird. Nach Eindampfen der Hauptfraktion wird der Rückstand in wenig Chloroform aufgenommen und die Lösung unter Rühren in Hexan bzw. Hexan/Äther 9 : 1 langsam eingetropt. Der farblose Niederschlag wird gesammelt und bei 50° über P₂O₅ i. V. getrocknet. Es resultiert so ein recht stabiler amorpher Feststoff.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Uhlmann & W. Pfeleiderer, *Helv. Chim. Acta* 64, 1688 (1981).
- [2] R. L. Letsinger & D. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* 87, 3526 (1965).
- [3] R. L. Letsinger & K. K. Ogilvie, *J. Am. Chem. Soc.* 89, 4801 (1967).
- [4] F. Eckstein & I. Rizk, *Angew. Chem.* 79, 684; 939 (1967); *Angew. Chem. Int. Ed.* 6, 695; 949 (1967).
- [5] F. Eckstein & I. Rizk, *Chem. Ber.* 102, 2362 (1969).
- [6] C. B. Reese & K. Saffhill, *Chem. Commun.* 1968, 767.
- [7] H. Kössel & H. Seliger, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe* 32, 298 (1975).
- [8] V. Amarnath & A. D. Broom, *Chem. Rev.* 77, 183 (1977).
- [9] C. B. Reese, *Phosphorus and Sulfur* 1, 245 (1976).
- [10] J. H. Van Boom, *Heterocycles* 7, 1197 (1977).
- [11] C. B. Reese, *Tetrahedron* 34, 3143 (1978).
- [12] M. Ikehara, E. Ohtsuka & A. F. Markham, *Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem.* 36, 135 (1979).
- [13] W. Pfeleiderer in „Les Colloques de l'INSERM Nucleosides, Nucleotides“, Ed. J. L. Barascut & J. L. Imbach, Vol. 81, 177 (1978).
- [14] W. Pfeleiderer, E. Uhlmann, R. Charubala, D. Flockerzi, G. Silber & R. S. Varma, *Nucleic Acids Res. Symposium Ser.* 7, 61 (1980).
- [15] D. Flockerzi, G. Silber, R. Charubala, W. Schlosser, R. S. Varma, F. Creegan & W. Pfeleiderer, *Liebigs Ann. Chem.* 1981, im Druck.
- [16] N. Katagiri, K. Itakura & S. A. Narang, *J. Am. Chem. Soc.* 97, 7332 (1975).
- [17] P. Cashion, K. Porter, T. Cadger, G. Sathe, T. Tranquilla, H. Notman & E. Jay, *Tetrahedron Lett.* 1976, 3769.
- [18] R. L. Letsinger & W. B. Lunsford, *J. Am. Chem. Soc.* 98, 3655 (1976).
- [19] J. Engels, Privatmitteilung, Universität Konstanz 1979.
- [20] H. G. Khorana, *Pure Appl. Chem.* 17, 349 (1968).
- [21] M. MacCoss & D. J. Cameron, *Carbohydr. Res.* 60, 206 (1978).
- [22] J. Stawinski, T. Hozumi, S. A. Narang, C. B. Bahl & R. Wu, *Nucleic Acids Res.* 4, 353 (1977).
- [23] A. K. Sood & S. A. Narang, *Nucleic Acids Res.* 4, 2757 (1977).
- [24] C. B. Reese, R. C. Titmas & L. Yau, *Tetrahedron Lett.* 1978, 2727.
- [25] D. Flockerzi, Diplomarbeit Univ., Stuttgart, 1978. Dissertation D. Flockerzi, Univ. Konstanz, 1980.