

## 161. Stereoselektive Synthese von 2'-O-(2-Methoxyethyl)ribonucleosiden: Nachbargruppenbeteiligung der Methoxyethoxy-Gruppe bei der Ribosylierung von Heterocyclen

von Pierre Martin

Zentrale Forschungslaboratorien der Ciba-Geigy AG, CH-4002 Basel

(31.V.96)

---

### Stereoselective Synthesis of 2'-O-(2-Methoxyethyl)ribonucleosides: Neighboring-Group Participation of the Methoxyethoxy Group in the Ribosylation Step

A new access to 2'-O-(2-methoxyethyl)ribonucleosides, building blocks for second-generation antisense oligonucleotides, is presented. The influence of various reaction parameters on the coupling reaction of 2-O-(2-methoxyethyl)-D-ribose derivatives with heteroaromatic bases as the key step was investigated, and reaction conditions were optimized with regard to formation of the desired  $\beta$ -D-anomers. With  $\text{Sn}^{2+}$  salts as promoters in polar solvents, these  $\beta$ -D-anomers were formed with a high degree of stereoselectivity.

---

**1. Einleitung.** – Die Hemmung der Translation durch die selektive Bindung von Antisense-Oligonucleotiden an komplementäre Boten-RNS erlaubt im Prinzip die rationale Planung einer neuen Generation von Heilmitteln [1–5]. Die zu überwindenden Hürden für eine praktische Anwendung sind hoch: Die Oligonucleotide müssen membranfähig und gegen Nucleasen stabil sein, eine hohe Affinität für RNS zeigen (Hybridisierung, Bildung stabiler Duplex-Strukturen) und eine hohe Diskriminierung (Spezifität) zwischen Zielsequenz und anderen Sequenzen aufweisen. Dies wird nur bei Verwendung von synthetisch abgewandelten Nucleinsäuren zu erreichen sein [4].

Wie wir kürzlich zeigen konnten, besitzen Oligonucleotide, welche in 2'-Stellung 'Ethylenglycol'- und 'Glycerin'-Reste tragen, die oben geforderten Eigenschaften in ausgeprägtem Masse [6] [7]. Darüber hinaus zeigen diese Oligonucleotide die erhoffte potente biologische Aktivität sowohl *in vitro* (Zellkultur) als auch *in vivo* (Tiermodell). Oligoribonucleotide mit 2'-O-(2-Methoxyethyl)-Substitution können als selektive Inhibitoren der PKC- $\alpha$ -<sup>1</sup>) und C-Raf-Kinase<sup>1</sup>)-Genexpression eingesetzt werden und gelten als vielversprechende Antisense-Antikrebsmittel [10].

Für die Bereitstellung grösserer Mengen der entsprechenden Monomerbausteine war eine verbesserte Synthese der 2'-O-(2-Methoxyethyl)ribonucleoside wünschenswert. Die Resultate dieser Arbeit sollen hier dargelegt werden.

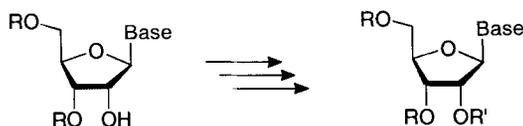
**2. Bisherige Synthese und neues Synthesekonzept.** – Die bisherige Synthese [6] war darauf ausgerichtet, einen allgemeinen Zugang zu einer Vielzahl von 2'-O-Alkyl-substitu-

---

<sup>1</sup>) Beide Proteine spielen eine bedeutende Rolle in der Zelldifferenzierung und im abnormalen Zellwachstum [8] [9].

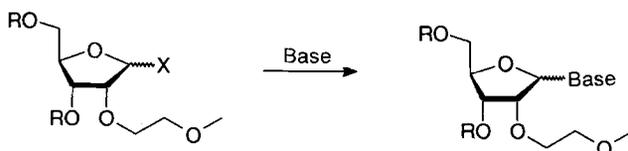
ierten Ribonucleosiden (insbesondere 5-Methyluridine<sup>2)</sup> zu erhalten (Variation von R' bei vorgegebener Nucleinbase, vgl. *Schema 1*). Die Alkylierung der 2'-O-Position wurde erst kurz vor Ende der Synthesesequenz vorgenommen, um in einem weit fortgeschrittenen, gemeinsamen Zwischenprodukt – mit bereits richtig angeordneter  $\beta$ -D-ständiger Nucleinbase – viele Alkyl-Substituenten R' einzuführen. Die späte Einführung der Alkyl-Gruppe R' bedingte jedoch das vorgängige Schützen der Nucleinbasen, um bei der Einführung des Substituenten R' deren gleichzeitige Alkylierung zu vermeiden.

Schema 1. Variation von R' bei vorgegebener Nucleinbase



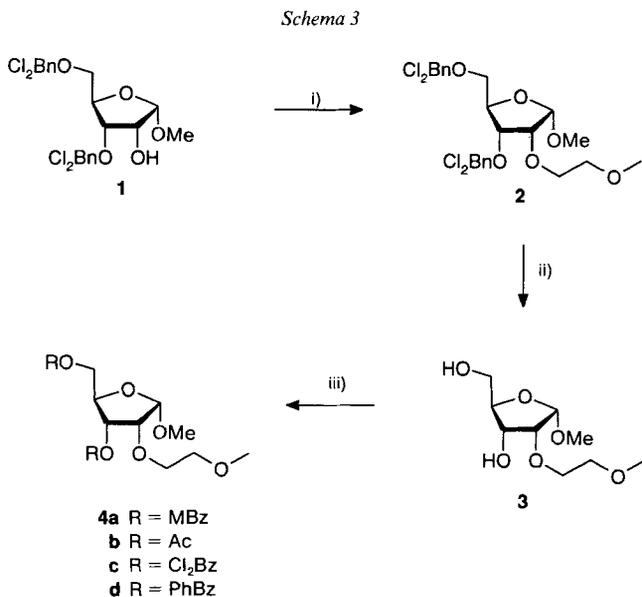
Für die Synthese verschiedener 2'-O-(2-Methoxyethyl)ribonucleoside (Variation der Base bei vorgegebenem R' = MeOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) wäre die im Vergleich zur bisherigen Synthese umgekehrte Reihenfolge von Baseneinführung und 2'-O-Alkylierung die geeignetere, d. h. die 2'-O-Alkylierung sollte vor der Einführung der verschiedenen Nucleinbasen durchgeführt werden (*Schema 2*)<sup>3)</sup>. Bei der späten Einführung der Basen muss jedoch mit dem Problem der  $\alpha$ -D/ $\beta$ -D-Anomerisierung gerechnet werden. Bekannte  $\beta$ -dirigierende Gruppen bei der Ribosylierung nach der Methode von *Vorbrüggen* [11] sind 2-ständige O-Acyl-Gruppen [12] sowie die 2-ständige O-(Alkoxy-carbonylmethyl)-Gruppe [13]<sup>4)</sup>. Nicht partizipierende Gruppen in 2-Stellung der Ribose wie H, MeO [15] und Alkyl [16] führen zu  $\alpha/\beta$ -Gemischen<sup>5)</sup>. An dieser Stelle soll über den dirigierenden Einfluss der 2-O-(2-Methoxyethyl)-Gruppe berichtet werden.

Schema 2. Variation der Nucleinbase bei vorgegebenem 2'-O-(2-Methoxyethyl)-Rest



- <sup>2)</sup> Für eine rasche Evaluation von geeigneten 2'-O-Substituenten in Oligonucleotiden sind die am einfachsten herzustellenden 5-Methyluridin-Derivate in bezug auf Affinität, Selektivität, Nucleasestabilität *etc.* genügend aussagekräftig [6] [7].
- <sup>3)</sup> Für die Synthese der vier wichtigsten Nucleosid-Analogen G, A, U (bzw. T) und C (bzw. 5-Methyl-C) führt die Synthesesequenz über ein gemeinsames, in der Sequenz 'spät' auftretendes Zwischenprodukt zu insgesamt deutlich kleinerer Stufenzahl. Zudem fällt durch die vorgängige 2'-O-Alkylierung das 'Schutzgruppenturnen' an den Nucleinbasen weg.
- <sup>4)</sup> Eine Nachbargruppenbeteiligung aus der 3-Position der Ribose ist ebenfalls bekannt [14].
- <sup>5)</sup> Ausser bei Verwendung von  $\alpha$ -D-Ribosyl-chlorid-Derivaten unter Bedingungen der S<sub>N</sub>2-Substitution [15].

**3. Resultate.** – Die Alkylierung von **1** (aus D-Ribose in drei Stufen herstellbar [6]) mit überschüssigem (2-Methoxyethyl)-chlorid und KOH-Pulver in DMSO lieferte in guter Ausbeute das Methoxyethoxy-Derivat **2**<sup>6)</sup>. Die Entfernung der Dichlorobenzyl-Schutzgruppen ( $\text{Cl}_2\text{Bn}$ ) in den 3- und 5-Positionen mittels  $\text{H}_2/\text{Pd}$  in Gegenwart von  $\text{MgO}$  ( $\text{HCl}$ -Fänger) in MeOH führte zum Diol **3**, welches mit verschiedenen Acyl-chloriden (in



i)  $\text{MeOCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ , KOH, DMSO, 28 h, 20°; 82%. ii)  $\text{H}_2$ , Pd/C, MgO, MeOH, 2 h, 35°; 88%. iii) R-Cl, Pyridin, 4 h, 20°; 91–96%.

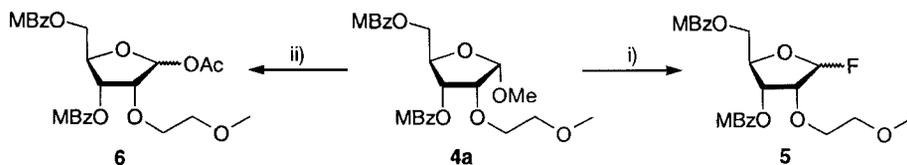
$\text{Cl}_2\text{Bn}$  = 2,4-Dichlorobenzyl,  $\text{BzCl}_2$  = 2,4-Dichlorobenzoyl, MBz = 4-Methylbenzoyl (= 4-Toluoyl), PhBz = 4-Phenylbenzoyl

Pyridin) in die entsprechenden Diacyl-Derivate **4a–d** übergeführt wurde. Während die Derivate **4a–c** ölig anfielen und chromatographisch gereinigt werden mussten, liess sich das Biphenyl-Derivat **4d** aus dem Rohgemisch fällen.

Um auch den Einfluss der Abgangsgruppe in der Ribosylierung von verschiedenen Nucleinbasen untersuchen zu können, wurde die MeO-Gruppe in **4a** durch ein F-Atom (mittels HF/Pyridin;  $\rightarrow$  **5**) und durch eine AcO-Gruppe (mittels AcOH/Ac<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;  $\rightarrow$  **6**) ersetzt (Schema 4).

<sup>6)</sup> Wird die Reaktion bei erhöhter Temperatur oder unterschüssigem Alkylierungsreagenz durchgeführt, wird neben **2** auch der Ringschluss von der 2-O-Position der Ribose in die *o*-Stellung der 3-ständigen Benzyl-Gruppe beobachtet (7Ring unter HCl-Abspaltung).

Schema 4



i) HF, Pyridin, 24 h, 20°; 96%. ii) AcOH/Ac<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (kat.), 18 h, 0°; 83%.

Als erstes wurde der Einfluss der Schutzgruppen, der als Promotor<sup>7)</sup> verwendeten Lewis-Säure und des Lösungsmittels auf das  $\alpha$ -D/ $\beta$ -D-Verhältnis der Produkte **8** der Reaktion zwischen **2** bzw. **4a** mit bis-silyliertem Thymin **7**<sup>8)</sup> untersucht (s. Tab. 1 und Schema 5). Während mit dem Cl<sub>2</sub>Bn-geschützten **2** und Me<sub>3</sub>SiTf (Trimethylsilyl-trifluoromethansulfonat) als Promotor in Lösungsmittel nur schlechte Selektivitäten erhalten wurden (z. B.  $\beta$ -D/ $\alpha$ -D-**8a** 1:2 (Toluol) oder 1:1 (Nitromethan)), bewirkte der Wechsel der Lewis-Säure Me<sub>3</sub>SiTf zu Sn(OTf)<sub>2</sub> einen dramatischen Anstieg der  $\beta$ -D-Selektivität sowie eine verstärkte Lösungsmittelabhängigkeit. So wurde in Toluol statt eines  $\alpha$ -D/ $\beta$ -D-Verhältnisses von 2:1 nun ein Verhältnis von 5:1 zugunsten des  $\beta$ -D-Isomeren  $\beta$ -D-**8a** beobachtet, und in Nitromethan wurde sogar ein  $\beta$ -D/ $\alpha$ -D-Verhältnis von 22:1 erhalten. Interessant auch der Einfluss der Schutzgruppen in 3- und 5-Stellung: In allen Fällen verschob sich das  $\beta$ -D/ $\alpha$ -D-Verhältnis zugunsten des  $\beta$ -D-Anomeren,

Tab. 1. Einfluss der Schutzgruppen, der Lewis-Säure und des Lösungsmittels auf das Anomerenverhältnis des Ribosylierungsproduktes **8** aus bis-silyliertem Thymin **7** und Ribose-Derivat **2** bzw. **4**<sup>a)</sup>

Versuch	Edukt	R <sup>b)</sup>	Lewis-Säure	Lösungsmittel	Temp.	$\beta$ -D/ $\alpha$ -D-Verhältnis <sup>c)</sup> (Rohprodukt <b>8</b> )
1	<b>2</b>	Cl <sub>2</sub> Bn	Me <sub>3</sub> SiTf	Toluol	70° <sup>d)</sup>	1:2
2	<b>2</b>	Cl <sub>2</sub> Bn	SnCl <sub>4</sub>	ClCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl	70° <sup>d)</sup>	1:2
3	<b>4a</b>	MBz	Me <sub>3</sub> SiTf	Toluol	70° <sup>d)</sup>	2:1
4	<b>2</b>	Cl <sub>2</sub> Bn	Me <sub>3</sub> SiTf	MeNO <sub>2</sub>	70° <sup>d)</sup>	1:1
5	<b>2</b>	Cl <sub>2</sub> Bn	Sn(Tf) <sub>2</sub>	Toluol	20°	5:1
6	<b>2</b>	Cl <sub>2</sub> Bn	Sn(Tf) <sub>2</sub>	MeCN	20°	8:1
7	<b>2</b>	Cl <sub>2</sub> Bn	Sn(Tf) <sub>2</sub>	MeNO <sub>2</sub>	20°	22:1
8	<b>4a</b>	MBz	Sn(Tf) <sub>2</sub>	MeNO <sub>2</sub>	20°	50:1
9	<b>4a</b>	MBz	SnCl <sub>2</sub>	MeCN	55°	51:1

<sup>a)</sup> Reaktionsbedingungen: 1 mmol Ribose-Derivat, 6 ml Lösungsmittel, 1,2 equiv. silylierte Nucleinbase, 1,2 equiv. Lewis-Säure, Reaktionszeit 20 h.

<sup>b)</sup> Cl<sub>2</sub>Bn = 2,4-Dichlorobenzyl, MBz = 4-Methylbenzoyl.

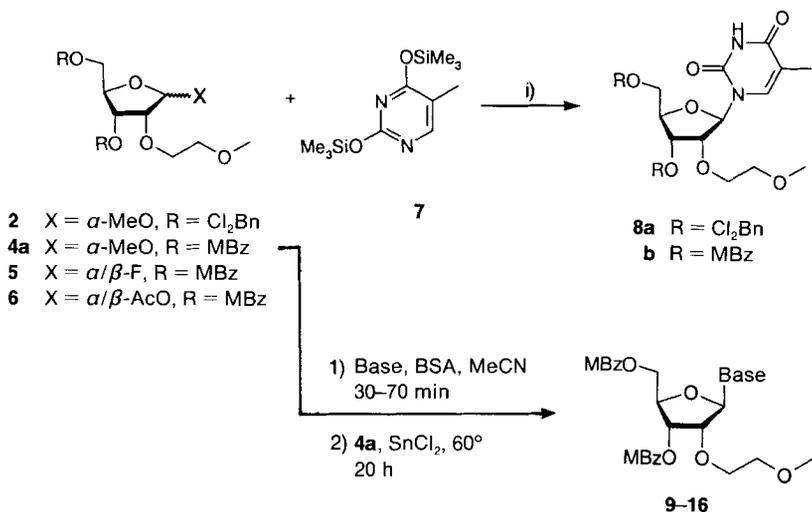
<sup>c)</sup> Bestimmt mittels <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>); z. B. H-C(1') von  $\alpha$ -D-Nucleosid **8b** bei 6,35 ppm (*d*, *J* = 7 Hz) und H-C(1') von  $\beta$ -D-Nucleosid **8b** bei 6,10 ppm (*d*, *J* = 3 Hz).

<sup>d)</sup> Keine Reaktion unterhalb 55°.

<sup>7)</sup> Die Lewis-Säure wird immer im Überschuss eingesetzt; katalytische Mengen reichen nicht aus für einen vollständigen Umsatz.

<sup>8)</sup> Zur Herstellung vgl. *Exper. Teil*.

Schema 5



i) Reaktionsbedingungen nach Tab. 1 bzw. 2.

wenn die Cl<sub>2</sub>Bn-Gruppe durch die 4-Methylbenzoyl-Gruppe (MBz) ersetzt wurde ( $\rightarrow$  **8b**) (vgl. *Versuche 1* und *3* sowie *7* und *8* in *Tab. 1*)<sup>9</sup>). Zu beachten ist ferner, dass Sn<sup>2+</sup>-Salze nicht nur zu guten bis sehr guten Anteilen an  $\beta$ -D-Anomeren führten, sondern auch auf die Reaktionskinetik einen positiven Einfluss ausübten (Me<sub>3</sub>SiTf und Sn<sup>4+</sup>-Salze promovierten die Reaktion bei 20° nicht. Erst ab 55° war langsame Ribosylierung zu beobachten<sup>10</sup>).

Für die Praxis (100–1000-g-Ansätze, vgl. *Exper. Teil*) stellten sich das billige SnCl<sub>2</sub> als Promotor mit MeCN als Lösungsmittel, eine hohe Reaktionstemperatur sowie Acyl-Schutzgruppen in den 3- und 5-Positionen als beste Kombination heraus (Ausbeuten an isoliertem reinem  $\beta$ -D-anomerem Thymin-Derivat  $\beta$ -D-**8b**: 67–85%)<sup>11</sup>).

Erwartungsgemäss übt die Abgangsgruppe in der 1-Position der Ribose auf Kinetik und Ausbeute einen grossen Einfluss aus (s. *Tab. 2* und *Schema 5*): Während im Fall des Methyl-ribofuranosids **4a** 20 h Erhitzen auf 60° für vollständigen Umsatz erforderlich war, reagierten das Acetat **6** nach 8 h bei 50° und das Fluorid **5** bereits nach 1 h bei 20° quantitativ (alle Versuche mit SnCl<sub>2</sub>/MeCN; Ausbeuten an isolierten reinen  $\beta$ -D-Anomeren  $\beta$ -D-**8b**). Das Anomerenverhältnis blieb von der Natur der Abgangsgruppe im wesentlichen unbeeinflusst.

<sup>9</sup>) Gleiches gilt für den Ersatz der MBz-Gruppe durch andere Acyl-Gruppen, d. h. zwischen den eingesetzten Acyl-Derivaten **4a–d** bestehen keine Unterschiede betreffend Anomerenverhältnisse.

<sup>10</sup>) Wurde der 2-O-Methoxyethyl-Rest durch den 2-O-Methyl-Rest ersetzt, liess sich die Reaktion mit Me<sub>3</sub>SiTf oder mit SnCl<sub>4</sub> in Gang setzen ( $\beta$ -D/ $\alpha$ -D 1:2 mit Cl<sub>2</sub>Bn-Schutzgruppen und 2:1 mit MBz-Schutzgruppen). Mit Sn<sup>2+</sup>-Salzen wurde auch bei 70° keine Reaktion beobachtet!

<sup>11</sup>) Gleich gute Ausbeuten an isolierten  $\beta$ -Anomeren erhielt man auch mit längeren oder verzweigten Ethylen-glycol-Resten an C(2'), z. B. Me(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O und MeOCH(Me)CH<sub>2</sub>O.

Tab. 2. Einfluss der Abgangsgruppe X des Ribose-Derivates auf Kinetik und Ausbeute der Ribosylierung<sup>a)</sup>

Edukt	X	R	Temp.	Zeit	Ausbeute <sup>b)</sup>
<b>4a</b>	$\alpha$ -MeO <sup>c)</sup>	MBz	60°	20 h	68%
<b>5</b>	$\alpha/\beta$ -F	MBz	20°	1 h	98%
<b>6</b>	$\alpha/\beta$ -AcO	MBz	50°	8 h	97%

a) Reaktionsbedingungen, s. Fussnote a in Tab. 1, Lösungsmittel MeCN, Lewis-Säure SnCl<sub>2</sub>, Reaktionstemp. und -zeit s. Tab. 2.

b) Isolierte Ausbeute an  $\beta$ -D-Anomeren  $\beta$ -D-**8b**.

c) Rasche  $\alpha$ -D/ $\beta$ -D-Äquibrierung des Ausgangsmaterials unter den Reaktionsbedingungen.

Der Einfluss der eintretenden Nucleinbase auf die Ausbeute ist erwartungsgemäss gross. Verallgemeinernde Schlussfolgerungen können hier nicht gezogen werden; immerhin kann festgestellt werden, dass unter den Reaktionsbedingungen, die für die Synthese des Thymin-Derivates optimal sind (vgl. Tab. 1, Versuch 9), die in Tab. 3 zusammengestellten Heterocyclen sehr unterschiedlich reagierten<sup>12)</sup>. Heterocyclen mit exocyclischen Amino-Gruppen lieferten schlechtere Ausbeuten im Vergleich zu Thymin und insbesondere zu den chlorierten Purinen<sup>13)</sup>.

**4. Zusammenfassung.** – Wie wir zeigen konnten, lassen sich monomere Bausteine für 2'-O-(2-Methoxyethyl)oligoribonucleotide durch die Kupplung von diversen heterocyclischen Nucleinbasen mit 2-O-(2-Methoxyethyl)ribose-Derivaten herstellen. Voraussetzung für gute Ausbeuten an  $\beta$ -D-Anomeren sind polare Lösungsmittel in Kombination mit billigen Sn<sup>2+</sup>-Salzen, welche die Nachbargruppenbeteiligung der in 2-Stellung stehenden Methoxyethoxy-Gruppe voll zur Geltung bringen.

Meinen beiden Laborantinnen *Claudia Kaltenbach* und *Gisela Bernauer* danke ich für die engagierte und selbständige Durchführung der Versuche, *Dr. Tamo Winkler* für die Interpretation von <sup>13</sup>C-NMR-Spektren und NOE-Messungen und *Kurt Auer* für die Bereitstellung der Verbindungen **4a** und **8b** in kg-Mengen.

#### Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [18].

*Methyl-3,5-bis-O-(2,4-dichlorobenzyl)-2-O-(2-methoxyethyl)- $\alpha$ -D-ribofuranosid (2)*<sup>14)</sup>. Zu einer Lsg. von 95,6 g (0,19 mol) **1**<sup>14)</sup> [6] in 1 l DMSO werden 18,0 g (0,32 mol) gemahlener KOH gegeben. Unter Rühren werden 19,1 ml ( $d = 1,038$ ;  $ca. 0,12$  mol) (2-Chloroethyl)-methyl-ether zugetropft und total 28 h bei RT. gerührt, wobei nach 4, 16 und 21 h nochmals je 9,0 g KOH und 10 ml (2-Chloroethyl)-methyl-ether zugegeben werden. Das Gemisch wird auf 1,5 l H<sub>2</sub>O gegossen, mit 2N HCl neutralisiert und mit AcOEt extrahiert. Der Extrakt wird getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und eingedampft. Der ölige Rückstand wird über Kieselgel chromatographiert (Toluol/AcOEt 4:1): 83,9 g (82%) **2**. Öl. <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3,39, 3,50 (2s, 2 MeO); 3,65 (m, 4 H); 3,80 (m, 2 H); 4,00 (m, 2 H); 4,30 (m, 2 H); 4,58, 4,75 (je AB, je ArCH<sub>2</sub>); 5,02 (d,  $J = 5$ , H-C(1)). MS: 538 ( $M^-$ ).

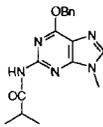
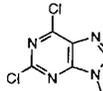
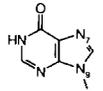
*Methyl-2-O-(2-methoxyethyl)- $\alpha$ -D-ribofuranosid (3)*. Ein Gemisch aus 63,7 g (0,118 mol) **2**, 650 ml MeOH und 14,15 g MgO wird über 19 g 5% Pd/C bei 35° hydriert. Nach 2 h wird keine weitere H<sub>2</sub>-Aufnahme beobachtet.

<sup>12)</sup> Für jeden einzelnen Heterocyclen müssten die besten Bedingungen einzeln optimiert werden, vgl. auch [15].

<sup>13)</sup> Es ist naheliegend, die entsprechenden Adenosin- und Guanosin-Derivate aus den chlorierten Ribosylpurinen herzustellen, vgl. [6] [17]. Für die Überführung der Uridin- bzw. Ribosylthymin-Derivate in die entsprechenden Cytidin- bzw. 5-Methylcytidin-Derivate, vgl. [6].

<sup>14)</sup> Die Verbindungen **1** und **2** sind kommerziell bei der Firma *Lipomed AG*, Fabrikmattenweg 4, CH-4144 Arlesheim, erhältlich.

Tab. 3. Einfluss der Nucleinbase auf die Ausbeute der Ribosylierung<sup>a)</sup> mit **4a**, vgl. Schema 5

Base	Produkt	Ausbeute <sup>b)</sup>	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> ) <sup>c)</sup>		MS
			H-C(1') ( <i>d</i> , <i>J</i> = 4–6 Hz)	H-Atom(e) des Heterocyclus	
	<b>8</b>	68 %	6,10	7,22	551 [ <i>M</i> – H] <sup>–</sup>
	<b>9</b>	66 %	6,04	5,53, 7,55	537 [ <i>M</i> – H] <sup>–</sup>
	<b>10</b>	35 %	6,05	7,28, 8,12	578 [ <i>M</i> – H] <sup>–</sup>
	<b>11</b>	32 %	6,23	8,16, 8,73	666 [ <i>M</i> + H] <sup>+</sup>
	<b>12<sup>b)</sup></b>	36 % <sup>d)</sup>	6,24	8,05	648 [ <i>M</i> + H] <sup>+</sup>
	<b>13</b>	81 %	6,23	8,30, 8,63	581 [ <i>M</i> – H] <sup>–</sup>
	<b>14</b>	97 %	6,22	8,30	615 [ <i>M</i> + H] <sup>+</sup>
	<b>15</b>	48 %	6,55	8,35	688 [ <i>M</i> + H] <sup>+</sup>
	<b>16</b>	44 % <sup>e)</sup>	6,18, 6,34	8,13, 8,35 8,23, 8,50	561 [ <i>M</i> – H] <sup>–</sup>

<sup>a)</sup> Reaktionsbedingungen: s. Fussnote a und Versuch 9 (60°) in Tab. 1.

<sup>b)</sup> Ausbeute an isolierten, reinen β-D-Anomeren.

<sup>c)</sup> Die vollständigen <sup>1</sup>H-NMR-Daten von **8b** sind im *Exper. Teil* (präp. Ansatz) beschrieben. Die Signale der Verbindungen **9–16** sind bis auf die in Tab. 3 angegebenen Werte praktisch identisch.

<sup>d)</sup> Verlust der Benzyl-Gruppe unter den Reaktionsbedingungen.

<sup>e)</sup> Nicht trennbares (1:1)-Gemisch an *N*<sup>7</sup>/*N*<sup>9</sup>-Isomeren.

Das Hydriergemisch wird filtriert und eingedampft. Der Rückstand wird in AcOEt/MeOH 9:1 aufgeschlämmt und von unlöslichen Mg-Salzen befreit. Das Filtrat wird über Kieselgel filtriert und eingedampft: 23,1 g (88%) **3**. Öl. <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 2,98 (*d*, *J* = 7, OH–C(3)); 3,07, 3,09 (2*s*, 2 MeO); 3,18 (*m*, 4 H); 3,44 (*m*, 2 H); 3,53 (*m*, 1 H); 3,66 (*m*, 1 H); 3,75 (*m*, 1 H); 3,90 (*m*, 1 H); 4,62 (*t*, *J* = 7, OH–C(5)); 4,70 (*d*, *J* = 5, H–C(1)). MS: 221 (*M*<sup>–</sup>).

*Allgemeine Vorschrift für die Bis-acylierung von 3 zu 4a–d.* Zur Lsg. von 23,0 g (0,103 mol) **3** in 230 ml Pyridin werden bei –5° 0,288 mol des entsprechenden Carbonsäurechlorids getropft, so dass die Temp. 3° nicht übersteigt. Nach dem Zutropfen wird das Kältebad entfernt und 4 h weitergerührt. Das Gemisch wird auf 500 ml 2*N* HCl gegossen und mit AcOEt extrahiert. Der Extrakt wird mit 2*N* HCl gewaschen, getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Der Rückstand wird im Falle von **4a–c** über Kieselgel chromatographiert (Toluol/AcOEt 9:1), im Falle von **4d** mit Et<sub>2</sub>O digeriert. Resultate: s. Tab. 4.

Tab. 4. Synthese von **4a–d** aus **3**

	Ausbeute [%]	Schmp. [°C]	<sup>1</sup> H-NMR (250 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		MS ( <i>M</i> <sup>–</sup> )
			H–C(1) ( <i>d</i> , <i>J</i> = 5)	MeO	
<b>4a</b>	96	Öl	5,13	3,27, 3,52	457
<b>4b</b>	92	Öl	5,04	3,38, 3,50	305
<b>4c</b>	91	Öl	5,10	3,29, 3,52	565
<b>4d</b>	93	94	5,14	3,28, 3,54	581

2-O-(2-Methoxyethyl)-3,5-bis-O-(4-toluoyl)-D-ribosyl-fluorid (**5**). Bei –64° werden 35,0 g HF in einen PP-Reaktor aufgespreßt und dann 15 g Pyridin zugetropft. In einem zweiten PP-Reaktor werden 3,52 g (7,68 mmol) **4a** in 30 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vorgelegt, und bei –30° wird die vorbereitete HF/Pyridin-Lsg. zudosiert. Darauf wird die Kühlung entfernt. Nach 24 h wird der Reaktor auf 0° gekühlt. Die Lsg. wird mit Eis versetzt, mit konz. NH<sub>3</sub>-Lsg. auf pH 3–4 gestellt und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die org. Phase getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und eingedampft und der Rückstand chromatographiert (Kieselgel, Toluol/AcOEt 9:1): neben 1,1 g (32%) α-D/β-D-**5** werden 1,32 g (38%) des rascher laufenden β-D-**5** und 0,9 g (26%) α-D-**5** erhalten.

β-D-**5**: <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5,82 (*d*, *J* = 63, H–C(1)). <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>): –116,05. MS: 445 ([*M* – H]<sup>–</sup>).

α-D-**5**: <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5,90 (*dd*, *J* = 63, 4, H–C(1)). <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>): –116,22. MS: 445 ([*M* – H]<sup>–</sup>).

2-O-(2-Methoxyethyl)-3,5-bis-O-(4-toluoyl)-D-ribosyl-acetat (**6**). Zur Vorlage von 5 ml AcOH werden 0,7 g (1,53 mmol) **4a** gegeben. Unter Rühren werden 0,5 ml Ac<sub>2</sub>O und 15 mg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (konz.) zugespritzt. Nach 18 h Rühren wird das Gemisch auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit AcOEt extrahiert. Der Extrakt wird getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und eingedampft. Chromatographie des Rückstandes (Kieselgel, Toluol/AcOEt 4:1) liefert 0,62 g (83%) **6** (α-D/β-D ca. 1:2). <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): typische Signale bei 6,52 (*d*, *J* = 6, H–C(1)) von α-D-**6**; 6,25 (*s*, H–C(1) von β-D-**6**). MS: 485 ([*M* – H]<sup>–</sup>).

*Allgemeine Vorschrift für die Ribosylierung mit 2 oder 4–6* (vgl. Tab. 1–3). Mit Ausnahme von Thymin werden alle Heterocyclus *in situ* silyliert. Zur Vorlage von 1,2 mmol Heterocyclus in 6 ml MeCN werden 264 mg (1,3 mmol) *N*,*O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA) gegeben und bis zur Auflösung (30–70 min) unter Rückfluss erhitzt. Dann wird die Lsg. auf Reaktionstemp. (vgl. Tab. 1–3) gebracht und mit 1 mmol Ribose-Derivat **2** bzw. **4–6** sowie 1,2 mmol Lewis-Säure versetzt. Nach der Reaktion (Reaktionszeiten vgl. Tab. 1–3) wird das Gemisch auf 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lsg. gegossen und 10 min gerührt. Dann wird filtriert und mit AcOEt extrahiert. Der Extrakt wird getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und eingedampft. Vom Rückstand (= Rohprodukt) wird das α-D/β-D-Verhältnis mittels <sup>1</sup>H-NMR bestimmt (vgl. Tab. 1). Chromatographie an Kieselgel (Toluol/AcOEt) führt zu den reinen Nucleosiden **8–16** (vgl. Tab. 2 und 3).

2'-O-(2-Methoxyethyl)-5-methyl-3',5'-bis-O-(4-toluoyl)uridin (**8b**): *Präp. Ansatz.* Zur Lsg. von 1,07 kg (2,33 mol) **4a** in 12 l MeCN werden 941 g (3,48 mol) Bis(trimethylsilyl)thymin **7** und 880 g (4,63 mol) SnCl<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O-frei) gegeben. Das Gemisch wird 3 h unter Rückfluss erhitzt und dann langsam auf 10 l 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lsg. gegossen. Nach Filtration über *Hyflo* wird das Filtrat mit 10 l AcOEt extrahiert. Der Extrakt wird getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und eingedampft und der Rückstand mit 4 l (*t*-Bu)OMe versetzt und über Nacht gerührt. Nach dem Abkühlen auf 0° wird filtriert und der Rückstand mit wenig eisgekühltem (*t*-Bu)OMe nachgewaschen. Nach Trocknen bei 50°/100 mbar erhält man 940 g (73%) **8b**. Schmp. 93° (Sintern), 120° (Gasentwicklung). <sup>1</sup>H-NMR

(250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,60 (s, Me); 2,44 (s, 2 Me); 3,18 (s, MeO); 3,43 (m, 2 H); 3,75 (m, 2 H); 4,63 (m, 4 H); 5,50 (m, 1 H); 6,10 (d,  $J = 3$ , H–C(1')); 7,22 (s, H–C(6)); 7,28, 7,97 (je AB, je 4 arom. H); 8,60 (br. s, NH). MS: 551 ( $[M - H]^-$ ).

*5-Methyl-2,4-bis(trimethylsilyloxy)pyrimidin (7)*. Ein Gemisch aus 2,0 kg (15,9 mol) Thymin und 20 l Toluol wird auf 120–130° erhitzt. Dabei werden 5 l Toluol abdestilliert (Entfernung von Restwassermengen). Nach Abkühlen auf 20° werden 16,0 l (126,5 mol) Me<sub>3</sub>SiCl sowie 8,0 l (38,4 mol) Hexamethyldisilazan zugegeben. Das Gemisch wird aufgeheizt. Bei 50° tritt eine (gut kontrollierbare) Exothermie auf. Die Temp. wird bis auf 70° erhöht und 2 h gehalten. Nach dem Abkühlen auf 20° wird das Gemisch klarfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wird destilliert (Kühlwassertemp. 75°): 2,52 kg (59%) **7** als starre Masse, Sdp. 117–118°/13 mbar, Schmp. 64–66°. <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,67 (s, Me); 7,70 (s, H–C(6)). MS: 214.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. M. Weintraub, *Scient. Am.* **1990**, 262, 40.
- [2] C. Hélène, S. Toulme, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, 1049, 99.
- [3] J. S. Cohen, *Antivir. Res.* **1991**, 16, 121.
- [4] E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 543; K. Englisch, D. H. Gauss, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 629.
- [5] J. F. Milligan, M. D. Matteucci, J. C. Martin, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1923.
- [6] P. Martin, *Helv. Chim. Acta* **1995**, 78, 486.
- [7] A. De Mesnaeker, R. Häner, P. Martin, H. Moser, *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 366.
- [8] A. Basu, *Pharmacol. Ther.* **1993**, 59, 257.
- [9] J. Avruch, X. Zhang, J. M. Kyriakis, *Trends Biochem. Sci.* **1994**, 19, 279.
- [10] K.-H. Altmann, N. M. Dean, D. Fabbro, S. M. Freier, T. Geiger, R. Häner, D. Hüsken, P. Martin, B. P. Monia, M. Müller, F. Natt, P. Nicklin, J. Phillips, U. Piles, H. Sasmor, H. Moser, *Chimia* **1996**, 50, 168.
- [11] U. Niedballa, H. Vorbrüggen, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 3654, 3660, 3664, 3668, 3672.
- [12] K. A. Watanabe, D. H. Hollenberg, J. J. Fox, *J. Carbohydr. Nucleos. Nucleot.* **1974**, 1, 1.
- [13] T. H. Keller, R. Häner, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 884.
- [14] T. Okauchi, H. Kubota, K. Narasaka, *Chem. Lett.* **1989**, 801; R. J. Young, S. Shaw-Ponter, G. W. Hardy, G. Mills, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8687; *ibid.* **1996**, 37, 1867.
- [15] E. Lukevics, A. Zablocka, 'Nucleoside Synthesis (Organosilicon Methods)', Ellis Horwood Series, London, 1991.
- [16] C. Schmit, *Synlett* **1994**, 238.
- [17] P. C. Srivastava, R. K. Robins, R. B. Meyer, Jr., in 'Chemistry of Nucleosides and Nucleotides', Ed. L. B. Townsend, Plenum Press, New York, 1988, S. 113.
- [18] P. Martin, T. Winkler, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 1678.