

STABILITÄT VON SCHUTZGRUPPEN FÜR NUCLEOSIDE UND NUCLEOTIDE

F.Cramer, H.P.Bär, H.J.Rhaese, W.Sänger, K.H.Scheit,  
G.Schneider und J.Tennigkeit

Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule  
Darmstadt, Germany

(Received 9 April 1963)

Für gezielte, schrittweise Synthesen von Oligonucleotiden werden selektive Schutzgruppen benötigt, die nach erfolgter Kondensation der Komponenten leicht und schonend wieder entfernt werden können<sup>1,2</sup>. Andererseits müssen die jeweiligen Schutzgruppen genügend stabil sein, so daß man die entsprechenden Verbindungen z.B. durch Säulenchromatographie in wässrigen Elutionsmitteln ohne Zersetzung reinigen kann. Um eine Übersicht über die gegebenen Möglichkeiten zu erhalten, haben wir die Hydrolysegeschwindigkeiten von Schutzgruppen für Hydrolyse und Phosphorsäuren untersucht.

1. Acylgruppen.

Zum Schutze einzelner Zuckerhydroxyle dienen vornehmlich Acylgruppen. In Tabelle 1 sind die Verseifungsgeschwindigkeiten von 5'-O-Acyl-2',3'-isopropylidenuridinen (I) wiedergegeben. Elektronenanziehende Gruppen in  $\alpha$ -Stellung erleichtern naturgemäß die Hydrolyse der Ester.

---

<sup>1</sup> F.Cramer, Angew.Chem. 73, 49 (1961).

<sup>2</sup> H.G.Khorana, "Some Recent Developments in the Chemistry of Phosphate Esters of Biological Interest", John Wiley and Sons, New York, 1961

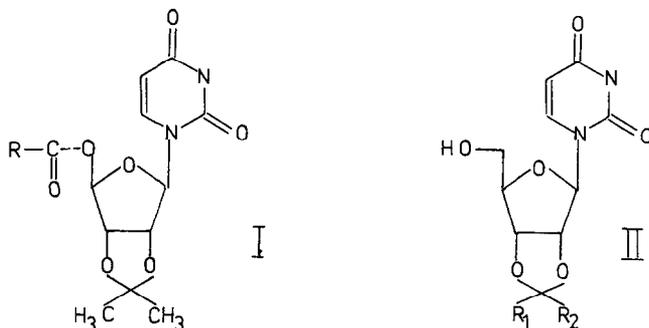


Tabelle 1

Verseifung von 5'-O-Acyl-2',3'-Isopropylidenuridinen I bei 20°C; gemessen im Autotitrator Radiometer

Nr.	R	pH	Umsatz %	Zeit [Min.]
1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	11	50	680
2	CH <sub>3</sub>	11,6	50	100
3	H	11,2	50	1,75
		10	50	22
4	CH <sub>2</sub> Cl	11	50	1-2
		8(4°C)	100	20 Stdn.
5	CCl <sub>3</sub>	8,2	50	1,5
		7	50	3
6	CF <sub>3</sub>	7	100	sofort

N<sup>6</sup>-Monochloracetyl-isopropylidenadenosin hat bei pH 11,6 eine Halbwertszeit von 20 Min.

Besonders günstige Eigenschaften hat danach die Formyl-Schutzgruppe<sup>3</sup>.

An Formylderivaten wurden dargestellt:

	Ausbeute
5'-O-Formyl-2',3'-isopropylidenuridin	89 %
5'-O-Formyl-2',3'-isopropylidenadenosin	86 %
N <sup>6</sup> ,5'-Di-O-formyl-2',3'-isopropylidenadenosin	80 %
3', 5'-Di-O-formyl-thymidin	83 %

<sup>3</sup> Inzwischen haben J.Žemlička, J.Beránek und J.Smrt [Coll.Czech.Chem.Comm. 27, 2784 (1962)] gleichfalls über die Synthese von O-Formylnucleosiden berichtet.

Wir stellten die Formylnucleoside durch Umsetzung mit N-Formylimidazol<sup>4</sup> unter äusserst schonenden Bedingungen dar. Isopropylidenadenosin läßt sich mit Ameisensäure-Essigsäureanhydrid je nach Reaktionsbedingungen selektiv in 5'-Stellung oder in 5'-Stellung und am N<sup>6</sup> des Adenins formylieren.

## 2. Acetale

Zum Schutz der 2'- und 3'-Hydroxyle werden Aceton oder Benzaldehyd bzw. subst. Benzaldehyde<sup>5</sup> verwendet. Elektronendonatoren in p-Stellung erleichtern die Hydrolysierbarkeit (Tab.2).

Tabelle 2

Hydrolyse von II mit 80 %iger Essigsäure bei 25°C

Nr.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Umsatz %	Zeit [Std.]
1	4-Cl·C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	10	72
2	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	20	20
3	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	20	20
4	4-CH <sub>3</sub> O·C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	100	10 <sup>5</sup>
5	4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N·C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	50	1
6	2,4-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> ·C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	H	50	5 Min.

Danach erscheinen die 4-Dimethylaminobenzalderivate, die sich leicht darstellen lassen (Uridinderivat in 60 % Ausb., Adenosinderivat in 50 % Ausb.) als besonders geeignet. So führt die Kondensation von 5'-O-Acetyl-2'-O-tetrahydropyranyluridin-3'-phosphat und 2',3'-O-Dimethylaminobenzylidenuridin mit Dicyclohexylcarbodiimid nach Abspalten der Schutzgruppen in 68 % Ausbeute zu Uridyl-(3'-5')-Uridin.

<sup>4</sup> H.A.Staab und B.Polenski, Liebigs. Ann. **655**, 95 (1962)

<sup>5</sup> M.Smith, D.H.Rammler, I.H.Goldberg und H.G.Khorana, J.Amer.Chem.Soc. **84**, 430 (1962)

### 3. Säurelabile Schutzgruppen für Phosphorsäuren

Als säurelabile Schutzgruppen für Phosphorsäure stehen die tert.-Butylgruppe und die Benzhydrylgruppe<sup>6</sup> zur Verfügung. Tab.3 zeigt die Halbwertszeiten der Hydrolyse von Benzhydrylestern verschiedener Nucleotide.

Tabelle 3

Hydrolysegeschwindigkeit von säurelabilen Nucleotidestern in 80 %iger Essigsäure bei 25°C

Nucleotidester	Umsatz %	Zeit
Adenosin-3'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	2 <sup>h</sup>
Uridin-3'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	15'
Cytidyl-3'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	1 <sup>h</sup>
Thymidin-5'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	40'
Deoxycytidin-5'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	3 <sup>h</sup>
Cytidin-5'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	3 <sup>h</sup>
N <sup>6</sup> ,5'-Diacetylcytidin-3'-phosphorsäurebenzhydrylester	50	1 <sup>h</sup>
Uridin-3'-phosphorsäure-4-methoxybenzhydrylester	100	<5'
Adenosin-3'-phosphorsäure-4-methoxybenzhydrylester	100	<5'
Adenosin-5'-phosphorsäure-tert.-Butyl-ester	100	80'
Thymidin-3'-phosphorsäure-tert.-Butyl-ester	100	45'
Thymidin-5'-phosphorsäure-tert.-Butyl-ester	100	60'

Die Halbwertszeiten der Benzhydrylester liegen zwischen 15 Min. und 3 Stdn. Eine Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten kann z.Zt.noch nicht gegeben werden.

<sup>6</sup> F.Cramer, H.Neunhoffer, K.H.Scheit, G.Schneider und J.Tennigkeit, Angew.Chem. Int.Ed.1, 331 (1962)