

CHLORAMEISENSÄUREESTER VON NUCLEOSIDEN -
NEUE ZWISCHENPRODUKTE FÜR SYNTHESEN MIT NUCLEINSÄUREBAUSTEINEN¹

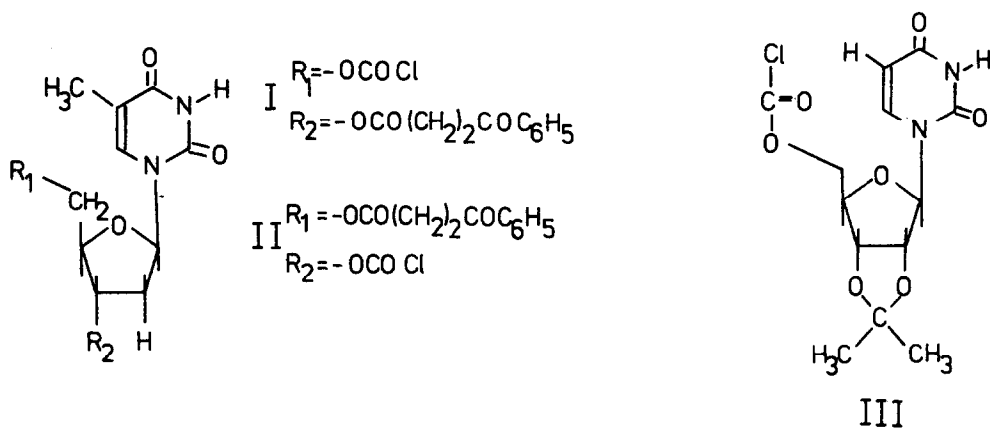
Hartmut Seliger

Institut für Makromolekulare Chemie der Universität Freiburg,
78 Freiburg i.Br., Stefan-Meier-Straße 31

(Received in Germany 31 July 1972; received in UK for publication 25 August 1972)

Ester der Chlorameisensäure sind wegen ihrer vielfältigen Umsetzungsmöglichkeiten wertvolle Zwischenstufen der organisch-chemischen Synthese. Führt man einen Nucleosidrest ein, so können die entsprechenden Chlorformiate eine Reihe von neuen und oftmals rationelleren Wegen zu geschützten Nucleosiden und Nucleotiden, wie sie für chemische Oligonucleotidsynthesen benötigt werden^{2,3}, und zu modifizierten Nucleosiden oder Analogen der Oligonucleotide bzw. Nucleotid-coenzyme eröffnen. Als Beispiele für die letztere Verbindungsklasse sind u.a. Oligonucleotidanaloga mit Carbonat- statt Phosphatverknüpfungen dargestellt worden^{4,5}; die beiden beschriebenen Synthesewege um- oder übergehen jedoch die Chlorformiatstufe. Wir konnten nun erstmals die Chlorameisensäureester einiger Pyrimidinnucleoside in reiner Form isolieren und beschreiben hier einen allgemein anwendbaren Syntheseweg und einige Umsetzungen dieser neuen Gruppe von Verbindungen.

Als Ausgangsmaterialien dienten 2'-Desoxy-thymidin, 3'-bzw. 5'- β -Benzoylpropionyl-2'-desoxy-thymidin⁶ sowie 2',3'-Isopropyliden-ribo-uridin. Diese Auswahl gestattete es, sowohl die Stabilität verschiedener Schutzgruppen wie die Reaktivität verschiedener OH-Gruppen unter den Reaktionsbedingungen zu prüfen. Zur Überführung in den Chlorameisensäureester wurden jeweils 1 mMol Nucleosidkomponente in ca. 12 ml trockenem Dioxan gelöst oder suspendiert und zum Entfernen von Wasserspuren an der Ölpumpe auf 10 ml eingeeengt. Anschließend wurde bei 60° unter gutem Rühren Phosgen eingeleitet (ca. 3 h zur Substitution von 5'-OH, 4 h von 3'-OH). Es entsteht eine klare Lösung des Chlorameisensäureesters, die eingefroren und lyophilisiert wird, zur Entfernung restlicher Phosgenspuren genügen zwei weitere Lyophilisationen aus Benzol- oder Dioxanlösung.



Die Chlorameisensäureester I, II und III wurden so direkt analysenrein erhalten. Unsubstituiertes Thymidin liefert unter diesen Bedingungen ein Gemisch von Mono- und Diphosgenierungsprodukt. Versuche, die Reaktion selektiv zur Monophosgenierungsstufe zu führen, waren nicht erfolgreich. I, II und III sind u. a. in Aceton, Dioxan und - im Gegensatz zu den Ausgangsverbindungen - in Benzol löslich. Sie können kühl und trocken längere Zeit ohne Zersetzung aufbewahrt werden, zerfallen jedoch schnell in wässrigen Lösungsmitteln. Im IR-Spektrum zeigen sie die für Chlorameisensäureester charakteristischen C=O-Streckschwingungen bei 1778 cm^{-1} (I und III) bzw. 1773 cm^{-1} (II)⁷. Die UV-Maxima stimmen mit denen der Ausgangsverbindungen überein (λ_{max} in Dioxan = 245 nm für I und II, 258 nm für III⁸). Die kernresonanzspektrografische Untersuchung von I - III bestätigt die angegebenen Strukturen. Deutlich zeigt sich der induktive Einfluß der Chlorformiatsubstitution auf die benachbarten Bindungen. So macht sich die Phosgenierung der 5'-OH-Gruppe bei I und III vornehmlich in einer Lageänderung des Signals der C₅-Protonen nach niedrigeren Feldstärken bemerkbar: $\delta_{2\text{H-C}_5}$, für I in d₆-Aceton = 4,70 ppm gegenüber 3,84 ppm im Ausgangsprodukt, desgl. für III in d₆-Aceton = 4,64 ppm gegenüber 3,78 ppm. Die Signale der übrigen Zuckerprotonen werden nicht oder fast nicht verändert. Bei II beeinflußt die -COCl - Substitution in 3'-Stellung vor allem die 4 Protonen an C₂, C₃, und C₄. Die chem. Verschiebungen in d₆-Aceton (in Klammern entspr. Werte für 5'-O-β-Benzoylpropionyl-thymidin) sind:

$\delta_{\text{H} - \text{C}_3} = 5,60 \text{ ppm}$ (4,55 ppm), $\delta_{2\text{H} - \text{C}_2} = 2,67 \text{ ppm}$ (2,28 ppm), $\delta_{\text{H} - \text{C}_4} = \text{ca. } 4,3 \text{ ppm}$ (ca. 4,1 ppm). Einflüsse der Chlorformiatsubstitution auf Basenprotonen, die sich nicht auf induktiver Basis deuten lassen, werden gegenwärtig näher untersucht⁹. Als weiterer Strukturbeweis lassen sich die Massenspektren von I - III heranziehen¹⁰. Die Moleküllionen ($m/e = 464/466$ bei I, II und $346/348$ bei III) sind als Peaks höchster Massenzahl nachweisbar. Der Verlust der Nucleobase ergibt intensitätsschwache Fragmente bei $m/e = 339/341$ (I) bzw. $235/237$ (III), die Basen selbst kommen mit 1-2 H bei $m/e = 126$ bzw. $112/113$. Der Chlorformiatrest fragmentiert offenbar in der Weise, daß zunächst CO_2 eliminiert und Cl umgelagert wird ($m/e = 420/422$ bei I, II, $302/304$ bei III), anschließend wird durch HCl - Abgabe ein weiteres stabiles Fragment erhalten ($m/e = 384$ bei I, II, 267 bei III). Bei III wird das Moleküllion durch ein intensives Fragment der Masse $M^+ - 15$ begleitet, das durch Verlust einer Methylgruppe des Isopropylidenrests entsteht. Im Bereich niedrigerer Massenzahlen treten neben den Basen bei I und II die Benzoylpropionylgruppe ($m/e = 161$) und ein Fragment $m/e = 81$ ¹¹ als stärkste hervor, beide fehlen bei III ($m/e = 43$ als stärkstes Fragment). Das Intensitätsverhältnis der Fragmentionen-Paare $\text{R}-^{35}\text{Cl}^+ : \text{R}-^{37}\text{Cl}^+$ entspricht dem Isotopenmuster einer Monochlorverbindung.

Einige Derivate der Nucleosid-chlorameisensäureester wurden durch Umsetzung mit Alkoholen und Aminen erhalten (etwa 10-facher Überschuß an Alkohol- oder Aminkomponente, 1-2 h bei 50° in Pyridin). Mit Äthanol und Piperidin konnten die Äthylcarbonate bzw. Piperidin-N-carbamate von I - III in guten Ausbeuten erhalten und durch Analyse, IR-, UV-, NMR- und Massenspektrografie charakterisiert werden. Das Phosgenierungsprodukt des d-Thymidins ergab ein Gemisch von Mono- und Di-äthyloxycarbonylderivat im Verhältnis ca.85:15, mit p-Nitrophenol dagegen fast ausschließlich das Monosubstitutionsprodukt, das in Schmelzpunkt, chromatografischen und spektrografischen Daten mit den Angaben von K.K.Ogilvie und R.L.Letsinger² für 5'-O-p-Nitrophenyloxycarbonyl-thymidin übereinstimmte. Umfangreichere Untersuchungen über die Einführung von Carbonat- oder Carbamatgruppen, insbesondere im Hinblick auf deren Schutzgruppeneigenschaften, sind zur Zeit im Gang. Über die Benutzung von Nucleosid-

chlorameisensäureestern als Anfangsgliedern von Oligonucleotidketten in der Träger-Oligonucleotidsynthese ist in anderem Zusammenhang berichtet worden¹².

Diese Arbeit wird von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Frau Professor Dr. E. Husemann danke ich für ihr Interesse.

LITERATUR

- 1) Synthesen mit Nucleinsäurebausteinen, 2. Mitteilung. - 1. Mitteilung:
H.Seliger, F.Cramer, Angew.Chem. 81, 577 (1969), Angew.Chem.internat. Edit. 8, 609 (1969)
- 2) u.a. K.K.Ogilvie, R.L.Letsinger, J.Org.Chemistry 32, 296 (1967)
- 3) A.F.Cook, J.Org.Chemistry 33, 3589 (1968)
- 4) M.P.Mertes, E.A.Coats, J.Med.Chemistry 12, 154 (1969)
- 5) D.S.Jones, J.R.Tittensor, J.Chem.Soc. (London) D 1969, 1240
J.R.Tittensor, J.Chem.Soc. (London) C 1971, 2656
- 6) R.L.Letsinger, M.H.Caruthers, P.S.Miller, K.K.Ogilvie, J.Amer.Chem.Soc. 89, 7146 (1967)
- 7) L.J.Bellamy, W.Brügel, Ultrarot-Spektrum und Chemische Konstitution,
Verlag Dr.D.Steinkopff, Darmstadt, 1955, S.100
- 8) vgl. R.L.Letsinger, K.K.Ogilvie, P.S.Miller, J.Amer.Chem.Soc. 91, 3360 (1969)
- 9) Herrn Dr.W.Regel und Frau cand.chem. U.Röck danke ich für Aufnahme und gemeinsame Diskussion der Spektren. Eine umfassendere Veröffentlichung ist in Vorbereitung.
- 10) Ich danke Herrn Dr.H.M.Schiebel, Gesellschaft für Molekularbiol.Forschung, Stockheim b. Braunschweig, für die Aufnahme der Massenspektren.
- 11) A.M.Lawson, R.N.Stillwell, M.M.Tacker, K.Tsuboyama, J.A.Mc Closkey, J.Amer.Chem.Soc. 93, 1014 (1971)
- 12) R.L.Letsinger, H.Seliger, Macromol.Preprints, XXIIIrd International Congress of Pure and Applied Chemistry, Boston, 1971, S.1261