

Diss. ETH Nr. 15088

**Synthese und Charakterisierung einer neuen Klasse  
von Oligonucleosiden mit einem die Nucleobasen  
enthaltenden Ethindiyl-Rückgrat**

ABHANDLUNG  
zur Erlangung des Titels  
Doktor der Naturwissenschaften

der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

Simon Eppacher

Dipl. Ing. TU Graz  
geboren am 7. April 1971  
aus Österreich

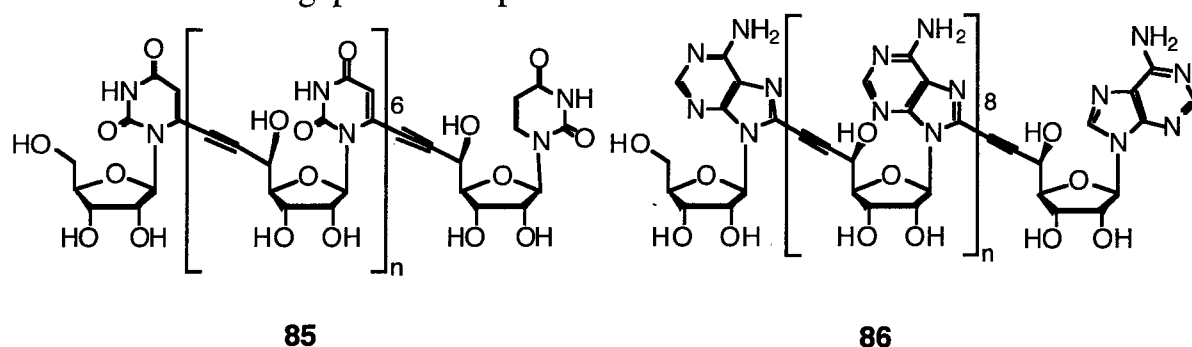
Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. A. Vasella, Referent  
Prof. Dr. A. Eschenmoser, Korreferent

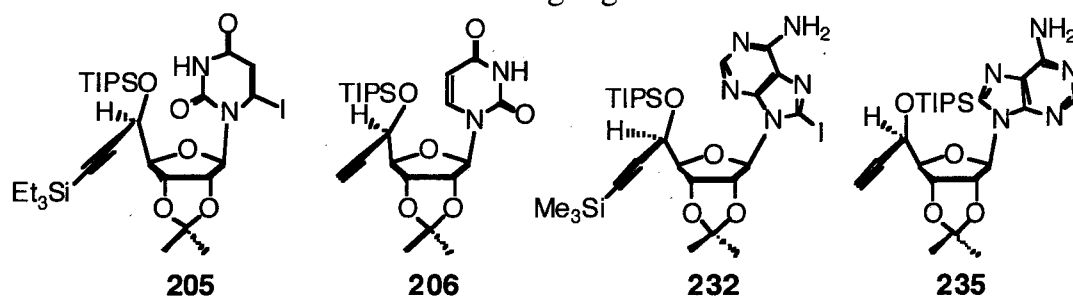
Zürich 2003

### Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Synthese und Charakterisierung von ethindylverknüpften Oligonucleosiden vom Typ der Verbindungen **85** und **86**. Ausgehend von der Frage, ob eine strukturelle und funktionale Differenzierung zwischen den Nucleobasen und dem Oligonucleotid-Rückgrat eine Grundvoraussetzung für die Duplexbildung darstellt, erfolgte die Synthese und Untersuchung von Oligomeren mit einem die Nucleobasen einschliessenden Rückgrat. Mit Hilfe von Kraftfeldberechnungen und *Maruzen*-Modellstudien wurde ermittelt, dass die ethindylverknüpften Uridinoligomeren **85** mit den ethindylverknüpften Adenosinoligomeren **86** das Potential zur Bildung von *Watson-Crick*-gepaarten Duplexen besitzen.



Für die Herstellung der geplanten Oligomeren wurde sowohl eine lineare als auch eine konvergente Synthesestrategie untersucht. Als Schlüsselschritt für die Kettenverlängerung wurde jeweils eine *Sonogashira*-Reaktion verwendet. Das für die Kopplung benötigte Uridinioid **205** und das Uridinacetylen **206** waren aus Uridin in fünf Stufen in 29% bzw. 43% Ausbeute zugänglich.



Die entsprechenden Adenosinmonomeren **232** und **235** wurden aus Adenosin in acht Stufen in 14% bzw. 17% Ausbeute hergestellt. Für die konvergente Synthese wurden zwei dimere Uridiniodide (**221** und **223**) und ein dimeres Adenosiniodid (**139**) hergestellt. Die Untersuchung der linearen Synthesestrategie zur Herstellung der von Uridin abgeleiteten Oligomeren **85** zeigte, dass die Ausbeute an höheren Oligomeren ab der Kopplung des trimeren Acetylens **212** mit dem monomeren Iodid **205** dramatisch sinkt. Bei der konvergenten Synthese war wiederum die Ausbeute ab der Kopplung des trimeren Acetylens **212** mit dem dimeren Iodid **221** unbefriedigend. Mit der konvergenten Synthese konnten Oligomere bis zum Hexameren hergestellt werden. Die *Sonogashira*-Kopplung mit den von Adenosin abgeleiteten Bausteinen zeigte, dass terminale Acetylene mit einer freien Aminogruppe des Adenosins (wie z.B. **235**) eine gute Reaktivität besitzen. Das wurde für die Synthese der gemischten Tetrameren **242** und **251** genutzt. Die Entschützung der Uridin oligomeren wurde bis zum Pentameren **219** durchgeführt und gelang in guten Ausbeuten.

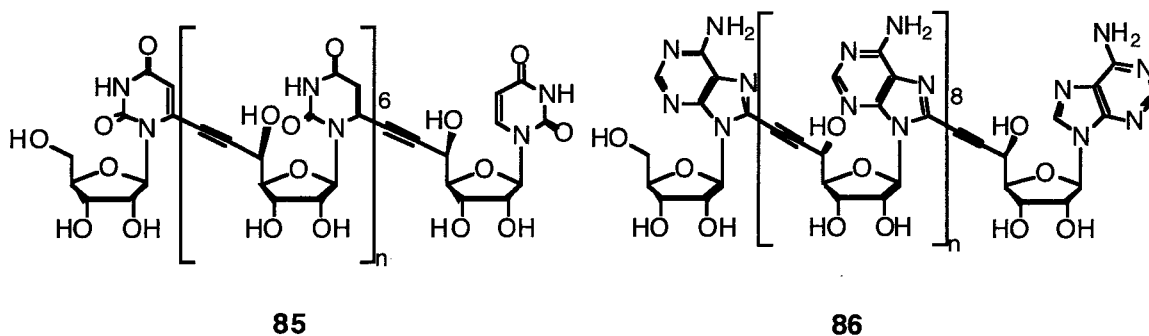
Die Studie der Homopaarung mit den Tetrameren **225** und **252** ergab keinen Hinweis auf eine Duplexbildung. Die Untersuchung der Heteropaarung mit dem Pentameren **226** und rA7 ergab ebenfalls keinen Hinweis auf eine Duplexbildung. Aus diesen Studien darf nur geschlossen werden, dass diese Oligomere nicht aussergewöhnlich stark paaren. Für genauere Untersuchungen wären längere Oligomere notwendig, deren Synthese jedoch methodische Verbesserungen erfordert.

In einem Nebenprojekt wurde der Einfluss eines Ethinylsubstituenten an C(5') auf die Konformation und die Paarung von rU<sub>14</sub>•rA<sub>14</sub> untersucht. Dafür wurden die Propargylalkohole **96** und **95** in acht Stufen mit einer Ausbeute von 9% zu den Phosphoramiditen **254** und **255** umgesetzt, die

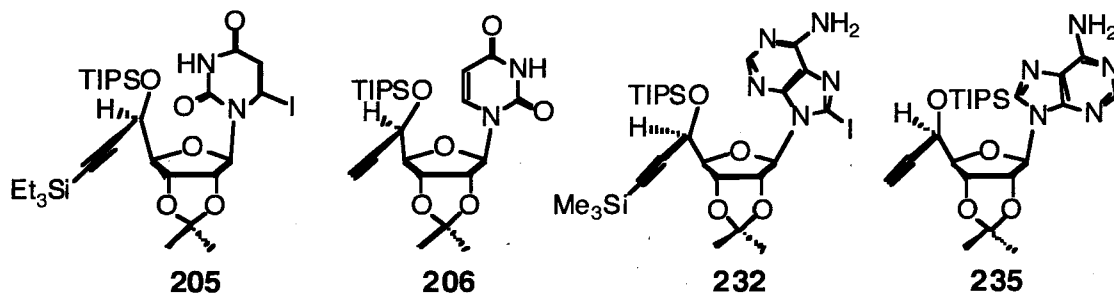
durch Festphasensynthese in tetradecamere rU<sub>14</sub>-Stränge eingebaut wurden.

## Summary

This thesis describes the synthesis and characterization of ethynediyl-linked oligonucleosides types **85** and **86**. Beginning with the question whether the structural and functional differentiation of the nucleobases and the oligonucleotide backbone is a necessary prerequisite for the duplex formation we synthesized and investigated oligonucleosides that possess a nucleobase-including backbone. With the help of force-field calculations and *Maruzen* models we assumed that our devised ethynediyl-linked uridinoligomers **85** would have the potential to form *Watson-Crick* base paired duplexes with the ethynediyl-linked adenosinoligomers **86**



For the synthesis of our projected oligomers we investigated a linear and a convergent route. The main step for the chain elongation was a *Sonogashira*-reaction. The required uridin-derived iodide **205** and alkyne **206** were obtained from uridin in five steps in overall yields of 29% and 43% respectively. The corresponding adenosin derived monomers were prepared from adenosin in eight steps in overall yields of 14% and 17% respectively.



For the convergent approach we synthesized two dimeric uridin derived iodides (**221** and **223**) and the dimeric adenosin derived iodide (**139**). The investigation of the linear synthesis to the projected uridin derived oligo-

mers showed that the yields on higher oligomers dropped dramatically as soon as the trimeric alkyne **212** and the monomeric iodide **205** were coupled. The examination of the convergent approach once again revealed a dissatisfactory yield as soon as the trimeric alkyne **212** and the dimeric iodide **221** were coupled. By the convergent route we obtained oligomers up to a uridin derived hexamer. The investigation of the *Sonogashira*-coupling with the adenosin derived building blocks revealed a good reactivity of terminal alkynes with a free amino group. This was used for the synthesis of the mixed tetramers **242** and **251**. The uridine derived oligomers were deprotected up to the pentamer **219** in good yields.

The examination of the homo pairing of the tetramers **225** and **252** showed no indication of a duplex formation. The investigation of the hetero pairing of **226** and rA<sub>7</sub> once again showed no indication of a duplex formation. According to these investigations we can only conclude that the pairing of our projected oligomers is not extraordinarily strong. More accurate investigations would require longer oligomers. The synthesis of longer oligomers would call for methodic improvements.

In a minor project we also examined the influence of a C(5') ethynediyl-substituent in respect to the conformation and pairing of rU<sub>14</sub>•rA<sub>14</sub>. The required phosphoramidites **254** and **255** were prepared from the propargylic alcohols **96** and **95** in eight steps with overall yields of 9%. The phosphoramidites were incorporated into rU<sub>14</sub> strands by standard solid phase synthesis.