



Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

FAKULTÄT
FÜR MATHEMATIK, INFORMATIK
UND NATURWISSENSCHAFTEN

Synthese und Untersuchung von maskierten ADPR-Derivaten

Synthesis and investigation of masked ADPR-derivatives

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium

Dr.rer.nat.

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Fachbereich Chemie, Institut für Organische Chemie

der Universität Hamburg

vorgelegt von

Tobias Schneider

Hamburg, 2022

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von April 2019 bis Dezember 2022 am Institut für Organische Chemie des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Chris Meier angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. Joachim Thiem

Datum der Disputation: 24.03.2023

Datum der Druckfreigabe: 29.03.2023

Nothing in this world
that's worth having
comes easy.

– Bob Kelso (*Scrubs*)

I. Inhaltsverzeichnis

I.	Inhaltsverzeichnis.....	I
II.	Abkürzungsverzeichnis	IV
1	Zusammenfassung.....	1
2	Abstract.....	4
3	Einleitung	7
4	Kenntnisstand	10
4.1	Ionenkanäle in inflammatorischen Prozessen.....	10
4.2	Transient receptor potential melastatin 2.....	12
4.3	Struktur und Mechanismus von TRPM2	13
4.4	Biosynthese von nucleotidischen TRPM2-Agonisten.....	17
4.5	Maskierungskonzepte zur Lipophilsteigerung	20
4.6	Photolabile Maskierungen	28
5	Aufgabenstellung	35
6	Ergebnisse und Diskussion	37
6.1	Erste Generation von bioreversibel-maskiertem <i>caged</i> (d)ADPR	37
6.1.1	Synthese der bioreversiblen Maske und der photolabilen Schutzgruppen	40
6.1.2	Synthese des acetylierten <i>caged</i> Ribose-Bausteins	42
6.1.3	Synthese der acetylierten OB-maskierten <i>caged</i> ADPR-Derivate.....	44
6.1.4	Erste Photolyseexperimente an ADPR	47
6.1.5	Photolyse- und Hydrolyseexperimente an Molekülen erster Generation.....	48
6.2	Synthese und Photolyse von MeNV-ADPR und -dADPR	60
6.2.1	Syntheseversuch von <i>caged</i> ADPR via Tosylverbindungen	61
6.2.2	Synthese von <i>caged</i> dADPR via Cyanoethylphosphoramidit.....	64
6.2.3	Synthese von MeNV-ADPR und -dADPR via Methylimidazolidat	68
6.2.4	Synthese von diacetylierten Referenzsubstanzen	70
6.2.5	Photolyseexperimente an <i>caged</i> ADPR und <i>caged</i> dADPR	79
6.3	Zweite Generation von bioreversibel-maskiertem <i>caged</i> ADPR.....	85

6.3.1	Synthese von bioreversibel-maskiertem <i>caged</i> ADPR.....	85
6.3.2	Photolabile Maskierung des β -Phosphats von ADPR	93
6.3.3	Photolyseexperimente an P_{β} - <i>caged</i> ADPR-Derivaten	99
6.4	Dritte Generation von bioreversibel-maskiertem <i>caged</i> ADPR	101
6.4.1	Syntheseversuch mit MeNV-Acetat.....	103
6.4.2	Synthese ausgehend von MeNV-Butyrat.....	107
6.4.3	Photolyseexperimente an <i>caged</i> ADPR-Derivaten	116
6.5	Hydrolyse- und Photolyseexperimente in HEK293-Zellextrakt.....	120
6.5.1	Acetylierte bioreversibel-maskierte <i>caged</i> ADPR-Derivate	121
6.5.2	Nicht-acetyliertes bioreversibel-maskiertes <i>caged</i> ADPR	127
6.5.3	<i>Caged</i> ADPR-Derivate	130
6.5.4	Bioreversible <i>caged</i> ADPR-Derivate.....	139
6.6	Fazit und Ausblick	144
7	Experimenteller Teil.....	148
7.1	Verwendete Geräte und Chemikalien.....	148
7.1.1	Lösungsmittel	148
7.1.2	Chemikalien	149
7.1.3	Pufferlösungen.....	149
7.1.4	Chromatographiematerialien	150
7.1.5	Geräte.....	150
7.1.6	Standardverfahrensanweisungen.....	152
7.2	Synthesen	156
7.2.1	Synthese der bioreversiblen Maske und der photolabilen Schutzgruppen.....	156
7.2.2	Synthese des acetylierten <i>caged</i> Ribose-Bausteins	161
7.2.3	Synthese der acetylierten OB-maskierten <i>caged</i> ADPR-Derivate.....	171
7.2.4	Synthese von MeNV-ADPR und -dADPR.....	179
7.2.5	Synthese von bioreversibel-maskiertem <i>caged</i> ADPR.....	212
7.2.6	Photolabile Maskierung des β -Phosphats von ADPR	228
7.2.7	Synthese von diacetyliertem ADPR.....	242
7.2.8	Synthese von bioreversiblen <i>caged</i> ADPR-Derivaten.....	252

8	Gefahrstoffverzeichnis.....	314
8.1	Verwendete Gefahrstoffe.....	314
8.2	Verwendete KMR-Substanzen	325
9	Anhang.....	326
9.1	Photolyse- und Hydrolyseexperimente an Molekülen erster Generation.....	326
9.2	Photolyseexperimente an <i>caged</i> ADPR und <i>caged</i> dADPR	328
9.3	Photolyseexperimente an P_{β} - <i>caged</i> ADPR-Derivaten	329
9.4	Photolyseexperimente an <i>caged</i> ADPR-Derivaten	330
10	Literaturverzeichnis	331
11	Danksagung	340
12	Eidesstattliche Versicherung	342

II. Abkürzungsverzeichnis

Å	Angström
a.u.	beliebige Einheit
AB	Acyloxybenzyl
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
ACB	Alkylcarbonatbenzyl
ADP	Adenosindiphosphat
ADPR	Adenosindiphosphat-Ribose
AM	Acetyloxymethyl
AMP	Adenosinmonophosphat
Äquiv.	Äquivalente
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	<i>attenuated total reflectance</i>
BAB	Bis(Acyloxybenzyl)
BM	Butanoyloxymethyl
bs	Breites Singulett
°C	Grad Celsius
cADPR	Cyclische Adenosindiphosphat-Ribose
CC	Coiled Coil
CD38	<i>cluster of differentiation 38</i>
CEM/0	humane T-Lymphozyten-Zelllinie
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
cps	<i>counts per second</i>
d	Dublett
Da	Dalton
DAD	Diodenarray-Detektor
dADPR	2'-Desoxyadenosindiphosphat-Ribose

DAMP	Gefahren-assoziierte Molekülstrukturen
dAMP	2'-Desoxyadenosinmonophosphat
DB	Decanoyloxybenzyl
DC	Dünnschichtchromatographie
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO- <i>d</i> ₆	Hexadeuterodimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EC ₅₀	Mittlere effektive Konzentration
EE	Ethylacetat
EIC	extrahiertes Ionenchromatogramm
ENPP1	<i>Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation
FDA	U.S. Food and Drug Administration
Fm	Fluorenylmethyl
ges.	gesättigt
Gew.%	Gewichtsprozent
GGRP	<i>Calcitonin gene-related peptide</i>
h	Stunde
HCV	Hepatitis C Virus
HEK	<i>human embryonic kidney</i>
HINT1	<i>histidine triad nucleotide-binding protein 1</i>
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation spectroscopy</i>
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy</i>
IDPR	Inosindiphosphat-Ribose
ISC	<i>Intersystem crossing</i>

J	Skalare Kern-Kern-Kopplung
K	Kelvin
kat.	katalytisch
kb	Kilobasen
kDA	Kilodalton
KMR	kanzerogen, mutagen, reproduktionstoxisch
KO	<i>Knock-out</i>
konz.	konzentriert
LA	Lewis-Säure
LC-MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektrometrie
Lsg.	Lösung
LTRPC2	<i>long TRP channel 2</i>
µL	Mikroliter
µM	Mikromolar
m	Multiplett
M	Molar
mAU	Milliabsorptionseinheiten
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie
<i>m/z</i>	Masse-Ladungs-Verhältnis
MeNV	Methyl-Nitroveratryl
MHR	TRPM homologe Region
MHz	Megahertz
min	Minute
mL	Milliliter
mM	Millimolar
MS	Massenspektrometrie
MTP	Mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore
NA	Nucleosidanalagon

NAADP	Nicotinsäureadeninucleotid-phosphat
NAD ⁺	Nicotinamidadeninucleotid
NADPH	Nicotinamidadeninucleotidphosphat
nM	Nanomolar
nm	Nanometer
NMP	Nucleosidmonophosphate
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
NPE	Nitrophenylethyl
NUDT9	<i>Nucleoside diphosphate-linked moiety x-type motif 9</i>
NV	Nitroveratryl
NvTRPM2	<i>Nematostella vectensis</i> TRPM2
OADPR	2''-O-Acetyladenosindiphosphat-Ribose
OB	Octanoyloxybenzyl
oNB	<i>ortho</i> -Nitrobenzyl
PAMP	Pathogen-assoziierte Molekülstrukturen
PARG	Poly(ADPR)-Glycohydrolase
PARP1	Poly(ADPR)-Polymerase
PB	Pentanoyloxybenzyl
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PE	Petrolether
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PLE	Schweineleberesterase
PPG	photolabile Schutzgruppen
ppm	<i>parts per million</i>
PRR	Mustererkennungsrezeptoren
PyTFA	Pyridiniumtrifluoracetat
q	Quartett
quin	Quintett

R_f	Retentionsfaktor
RibMP	Ribosemonophosphat
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RP	<i>reversed phase</i>
Rt	Raumtemperatur
s	Singulett
s	Sekunde
SARS-CoV-2	<i>severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2</i>
Sdp	Siedepunkt
sept	Septett
t	Triplett
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBDMSCI	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
TEAA	Triethylammoniumacetat
TEAB	Triethylammoniumbicarbonat
TFA	Trifluoressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
TREAT-HF	Triethylamin-Trihydrofluorid
TRP	<i>transient receptor potential</i>
TRPA	<i>transient receptor potential ankrin</i>
TRPC	<i>transient receptor potential canonical</i>
TRPM	<i>transient receptor potential melastatin</i>
TRPML	<i>transient receptor potential mucolipins</i>
TRPP	<i>transient receptor potential polycystin</i>
TRPV	<i>transient receptor potential vanilloid</i>

U	Einheiten
UV	Ultraviolett
v/v	Volumenverhältnis
z.B.	Zum Beispiel
δ	Chemische Verschiebung
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl

1 Zusammenfassung

Zum Schutz eines Organismus vor mikrobiologischen oder chemischen Pathogenen hat sich evolutionär die Entwicklung einer Immunantwort durchgesetzt. Sollten pathogene Faktoren im Organismus detektiert werden, werden Entzündungsprozesse ausgelöst, die die Pathogene beispielsweise via Oxidation oder Phagozytose bekämpfen sollen. Während Entzündungsreaktionen durch die Bekämpfung der Pathogene über einen kurzen Zeitraum hinweg vorteilhaft sein können, können diese bei chronischen Entzündungsreaktionen auch Gewebe- und Zellschädigungen im Organismus auslösen und sich daraus verschiedenen Krankheiten entwickeln. Dabei sind unter anderem die Ionenkanäle der TRP-Familie eng mit der Pathogenese durch Entzündungsreaktionen verknüpft. Zur Vermeidung der Pathogenese ist es wichtig, die biologischen Prozesse der Immunantwort und die Rolle dieser Ionenkanäle dabei zu verstehen. Dabei ist der nicht-selektive Ca^{2+} -Ionenkanal TRPM2 in den Fokus der Forschung gerückt, welcher in den Entstehungen von diversen Krankheiten, wie z.B. Diabetes, Sepsis, Krebserkrankungen oder auch neurodegenerative Erkrankungen, involviert ist. Die bekanntesten Aktivierungsmechanismen von TRPM2 erfolgen durch oxidative Bedingungen oder den Agonisten Adenosindiphosphat-Ribose (ADPR). Um die Rolle von TRPM2 in den genannten Prozessen in Zellassays genauer verstehen zu können, wird eine selektive und nicht-invasive Methode zur Kanalaktivierung benötigt, die die untersuchte Zelle nicht stresst, damit andere Zellprozesse und Messergebnisse beeinflusst. Dies kann über die Anwendung eines *Prodrug*-Konzepts auf den Agonisten ADPR erfolgen, bei dem das Anfügen einer lipophilen Maske die Lipophilie ausreichend erhöht, um eine passive Aufnahme der maskierten Substanz in die Zelle zu ermöglichen. In der Zelle wird die Maske anschließend durch zelluläre Enzyme abgespalten und der Agonist freigesetzt. Die Freisetzung durch zelluläre Enzyme ist jedoch von der Enzymkinetik abhängig, sodass alternativ ein Schutzgruppenkonzept benötigt wird, welches eine schnelle und unabhängige Freisetzung des Agonisten ermöglicht. Dafür bietet sich der Einsatz von photolabilen Schutzgruppen an, die im besten Fall biologisch inert sind und die durch Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge innerhalb kurzer Zeit abgespalten werden können und dadurch die zuvor geschützte Verbindung gezielt freigesetzt wird. Eine ausreichende Erhöhung der Lipophilie für eine passive Zellaufnahme ist durch Anfügen dieser *photocage* Schutzgruppen nur selten der Fall.

Das Ziel dieser Arbeit bestand aus der Synthese von ADPR-Verbindungen, die eine bioreversible Gruppe zur Lipophiliesteigerung und eine photolabile Schutzgruppe zur gezielten Freisetzung in der Zelle enthalten. Nach passiver Aufnahme in die Zelle sollte die bioreversible Gruppe enzymatisch abgespalten werden und biologisch inaktives *caged* ADPR freisetzen, welches daraufhin durch die verminderte Lipophilie in der Zelle akkumuliert. Eine anschließende Bestrahlung ermöglicht somit eine räumlich und zeitlich gesteuerte Freisetzung des Agonisten. Die synthetisierten Verbindungen wurden anschließend in Hydrolyse- und

Photolyseexperimenten evaluiert und basierend auf den Ergebnissen weiterentwickelt werden. Basierend auf literaturbekannten bioreversibel-maskierten ADPR-Derivaten und photolabil-geschütztem ADPR (einem Gemisch aus zwei photolabil-geschützten Regioisomeren) erfolgte zunächst die Synthese von *caged* ADPR-Derivaten der ersten Generation, die eine photolabile Methylnitroveratryl (MeNV)-Schutzgruppe am anomeren Zentrum sowie einer bioreversiblen Maskierung am β -Phosphat enthalten. Die Synthese erfolgte unter der Verwendung von bioreversiblen Acetylgruppen an der terminalen Ribose. In folgenden enzymatischen Hydrolyseexperimenten konnte eine erfolgreiche Abspaltung der bioreversiblen Gruppe sowie der Acetylgruppen beobachtet werden. Die Abspaltung der Acetylgruppen erfolgte jedoch um ein Vielfaches langsamer als die der bioreversiblen Maske. Eine anschließende Photolyse bei 365 nm bestätigte die erfolgreiche Freisetzung von ADPR aus dem während der Hydrolyse gebildeten photolabil-geschützten Zwischenprodukt. Zudem wurde eine Syntheseroute zur Herstellung der Zwischenprodukte entwickelt und die daraus erhaltenen *caged* ADPR-Verbindungen in Photolyseexperimenten untersucht. Dabei konnte eine erfolgreiche Freisetzung der Agonisten sowohl bei 365 nm als auch bei 405 nm beobachtet werden.

Da die enzymatische Abspaltung der Acetylgruppen der *caged* ADPR-Derivate der ersten Generation vergleichsweise langsam erfolgt, sollte zudem ein maskiertes *caged* ADPR hergestellt werden, welches abgesehen von der bioreversiblen Maske und der photolabilen Gruppe keine weitere Schutzgruppen mehr enthält. Dies konnte durch die Verwendung von Silylschutzgruppen erreicht werden, durch deren orthogonale Abspaltung das maskierte *caged* ADPR erhalten werden konnte. Dabei musste auf möglichst neutrale Bedingungen der Desilylierungsreaktion und der anschließenden Aufarbeitung geachtet werden, da es sonst zur Zersetzung der Zielverbindung kam. Diese Desilylierungsmethode wurde anschließend verwendet, um ein Regioisomer des literaturbekannten Nitrophenylethyl (NPE)-ADPR-Derivats sowie ein analoges Derivat mit einer MeNV-Photogruppe herzustellen. Die entsprechenden Produkte konnten jedoch nur verunreinigt isoliert werden, da nach jedem Reinigungsschritt neue Zersetzungsprodukte beobachtet wurden. Die Photolyseexperimente dieser Verbindungen zeigten ähnliche Freisetzungsgeschwindigkeiten bei 365 nm, jedoch konnte für das MeNV-Derivat eine dreifach schnellere Abspaltung der Photogruppe bei einer Bestrahlungswellenlänge von 405 nm beobachtet werden, womit die Verwendung von MeNV-Schutzgruppen im zellulären Kontext vorteilhaft gegenüber der NPE-Schutzgruppe ist.

Wegen der beobachteten Labilität der nicht-acetylierten maskierten *caged* ADPR-Verbindung sollte das Strukturmotiv des Phosphatriester vermieden werden. Daraufhin erfolgte die Synthese von *caged* ADPR-Derivaten, welche eine Kombination aus photolabiler und bioreversibler Gruppe am anomeren Zentrum der terminalen Ribose enthalten. Die bioreversible Gruppe an der Photogruppe sollte eine ausreichend Lipophilieerhöhung sowie die Möglichkeit der enzymatischen Abspaltung nach Zellaufnahme liefern. Da die bioreversible

Gruppe an der Photogruppe gebunden ist, wird selbst bei nicht erfolgter Abspaltung der lipophilen Kette bei der Photolyse direkt der Agonist freigesetzt. Bei der Synthese der neuen bioreversiblen *caged* ADPR-Derivate sollte die Position der bioreversiblen Gruppe an zwei möglichen Positionen der Photogruppe untersucht werden. Zusätzlich wurde untersucht, ob die Ausrichtung des Esters bei der bioreversiblen Gruppe einen Einfluss auf Hydrolyse- und Photolysegeschwindigkeiten besitzt. Dementsprechend wurden auch jeweils ein Alkyl- bzw. Alkanoyl-Derivat hergestellt. Bei der abschließenden Kupplungsreaktion konnten beide Regioisomere der Heptylester und ein Regioisomer eines Heptanoylesters hergestellt werden. In Photolyseexperimenten zeigten alle drei bioreversiblen *caged* ADPR-Derivate die direkte Freisetzung des Agonisten mit ähnlichen Abspaltgeschwindigkeiten, sodass geschlossen wurde, dass die Substitution der Photogruppe keinen Einfluss auf die Photolysegeschwindigkeiten hat.

Abschließende PBS- und HEK-Zellextrakthydrolysen mit anschließenden Photolysen wurden von allen Zielverbindungen durchgeführt, um erste Aussagen über die Stabilitäten zu erhalten. Die acetylierten und bioreversibel maskierten *caged* ADPR-Derivate zeigten ausreichende Stabilität gegenüber chemischer Hydrolyse in PBS-Puffer. Die enzymatische Abspaltung der bioreversiblen Maske wurde beobachtet, jedoch nur bedingt für die Acetylgruppen, weshalb nach der Photolyse hauptsächlich die Freisetzung von zweifach acetyliertem ADPR beobachtet wurde. Die Abspaltung der Acetylgruppen konnte anhand der HEK-Hydrolyse der synthetisierten acetylierten MeNV-ADPR-Referenzsubstanz gezeigt werden. Eine anschließende Photolyse ergab somit die Freisetzung von ADPR. Das nicht-acetylierte maskierte *caged* ADPR-Derivat zeigte im Vergleich zum acetylierten und maskierten *caged* ADPR eine schnellere chemische Hydrolyse in PBS-Puffer, jedoch konnte in der HEK-Zellextrakthydrolyse die Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats der maskierten Verbindung beobachtet werden. Als Referenz wurden die unmaskierten *caged* ADPR-Derivate und die P_{β} -photolabil-maskierten ADPR-Derivate in Hydrolysestudien untersucht. Die *caged* ADPR-Derivate zeigten keine Hydrolyseempfindlichkeit und konnten dementsprechend durch Photolyse in freies ADPR umgesetzt werden. Im Gegensatz dazu erfolgte die schnelle Zersetzung der P_{β} -photolabil-maskierten ADPR-Derivate sowohl in PBS-Puffer als auch im HEK-Zellextrakt. Die neu synthetisierten *caged* ADPR-Derivate bieten demnach eine höhere Stabilität als die P_{β} -*caged* ADPR-Derivate und sind demnach für zelluläre Anwendungen besser geeignet. Die Hydrolyseexperimente der kombinatorisch-maskierten ADPR-Derivate zeigten keine Zersetzung in PBS-Puffer, dafür konnte ausschließlich für das Heptanoyl-Derivat eine Esterspaltung beobachtet werden. Ein möglicher „lock-in“-Effekt wird dadurch vermindert, jedoch sind vermutlich von allen synthetisierten *caged* ADPR-Derivaten sowie dem literaturbekannten Derivat die bioreversibel maskierten Derivate am besten zum Einsatz in zellulären Systemen geeignet, da trotz langsamer Esterspaltung eine Lipophilieerhöhung

erhalten, eine direkte Freisetzung von freiem ADPR aus diesen Verbindungen ermöglicht wurde sowie eine hohe Stabilität der Verbindungen im wässrigen Medium vorlag.

2 Abstract

To protect an organism from microbiological or chemical pathogens the immune system was developed in the process of evolution. If pathogenic factors are detected in the organism, inflammatory responses are triggered to eliminate the pathogens, for example via oxidation or phagocytosis. While short inflammatory reactions can be beneficial by eliminating the pathogens, chronic inflammatory responses can also trigger tissue and cell damage in the organism, resulting in the development of various diseases. In this context, among others, the ion channels of the TRP family are closely linked to pathogenesis triggered by inflammatory reactions. To avoid pathogenesis, it is important to understand the biological processes of the immune response and the role of these ion channels in it. In this context, the non-selective Ca^{2+} ion channel TRPM2 has become the focus of research, which has been implicated in the pathogenesis of diverse diseases, such as diabetes, sepsis, cancers, and neurodegenerative diseases. TRPM2 can be activated by oxidative conditions or the agonist adenosine-diphosphate-ribose. To further understand the role of TRPM2 in the aforementioned processes, a selective and non-invasive method for channel activation in cell assays is needed that does not stress the cell and thus affect other cell processes. This can be accomplished by applying a prodrug approach to the agonist ADPR, in which the addition of a lipophilic mask increases lipophilicity sufficiently to allow passive uptake of the masked compound into the cell. In the cell, the mask is subsequently cleaved by cellular enzymes and the agonist is released. However, release by cellular enzymes is dependent on enzyme kinetics, so alternatively, a protective group approach is needed that allows rapid and independent release of the agonist. For this purpose, the use of photolabile protecting groups is suitable, which in the best case are biologically inert and release the protected compound within a short time by irradiation with light of a specific wavelength. A sufficient increase in lipophilicity for passive cell uptake is rarely achieved by adding these photocage protecting groups.

The aim of this work consisted of the synthesis of ADPR compounds containing a bioreversible masking group for lipophilicity enhancement and a photolabile protective group for controlled release inside the cell. After passive uptake into the cell, the bioreversible group should be enzymatically cleaved and result in the release of biologically inactive caged ADPR, which is then accumulated in the cell due to reduced lipophilicity. Subsequent irradiation thus allows spatially and temporally controlled release of the agonist. The synthesized compounds should then be evaluated in hydrolysis and photolysis experiments and further compounds should be developed based on the results.

Based on literature known bioreversibly-masked ADPR derivatives and photolabile-protected ADPR, the synthesis of first generation caged ADPR derivatives containing a photolabile MeNV protecting group at the anomeric center and a bioreversible masking at the β -phosphate was first performed. However, the synthesis was carried out using bioreversible acetyl groups at the terminal ribose. In subsequent enzymatic hydrolysis experiments, successful cleavage of the bioreversible group as well as the acetyl groups was observed. However, the cleavage of the acetyl groups occurred many times slower than that of the bioreversible mask. Subsequent photolysis at 365 nm confirmed the successful release of ADPR from the photolabile-protected intermediate formed from hydrolysis. In addition, a synthetic route for the synthesis of the intermediates was developed and the resulting caged ADPR compounds were investigated in photolysis experiments. Successful release of the agonists was observed at both 365 nm and 405 nm.

Since the enzymatic cleavage of the acetyl groups of the first-generation caged ADPR derivatives is comparatively slow, the aim was also to prepare a masked caged ADPR which, apart from the bioreversible mask and the photolabile group, no longer contains any further protecting groups. This was done by using silyl protecting groups, whereby finally the masked caged ADPR could be obtained by orthogonal cleavage. The conditions of the desilylation reaction and subsequent workup needed to be neutral, otherwise decomposition of the target compound would occur. This desilylation method was subsequently used to prepare a regioisomer of the NPE-ADPR derivative known from the literature as well as an analogous derivative with a MeNV photocage. The corresponding products could only be isolated impure, since after further purification steps only decomposition products could be obtained. The photolysis experiments of these compounds showed similar release rates at 365 nm, but a threefold faster photolytic cleavage was observed for the MeNV group at an irradiation wavelength of 405 nm, making the use of MeNV protecting groups advantageous over the NPE protecting group in the cellular context.

Because of the observed lability of the non-acetylated masked caged ADPR compound, a phosphorus triester should be avoided. This was done by the synthesis of caged ADPR derivatives only containing a combination of photolabile and bioreversible group at the anomeric center of the terminal ribose. The bioreversible group at the photogroup is expected to provide sufficient lipophilicity enhancement as well as the possibility of enzymatic cleavage after cell uptake. Since the bioreversible group is attached to the photogroup, even if the lipophilic chain is not cleaved upon photolysis, the agonist is directly released. In the synthesis of the new bioreversible caged ADPR derivatives, the position of the bioreversible group at two possible positions of the photogroup was investigated. In addition, it was investigated whether the orientation of the ester at the bioreversible group influences hydrolysis and photolysis rates. Accordingly, alkyl or alkanoyl derivatives were prepared. In the final coupling reaction, both

regioisomers of heptylestere and a regioisomer of a heptanoyl ester could be isolated. In photolysis experiments, all three bioreversible caged ADPR derivatives showed direct release of the agonist with similar cleavage rates, so it was concluded that the substitution of the photogroup does not affect the photolysis rates.

Hydrolysis in PBS and HEK cell extract followed by photolysis were performed for all target compounds to get an impression about the stabilities. The acetylated and bioreversibly masked caged ADPR derivatives showed sufficient stability to chemical hydrolysis. Enzymatic cleavage of the bioreversible mask was observed, but for the acetyl groups only to a limited extent, and therefore the release of acetylated ADPR was mainly observed after photolysis. The cleavage of the acetyl groups was demonstrated by HEK hydrolysis of the synthesized acetylated MeNV-ADPR reference compound. Subsequent photolysis thus revealed the release of ADPR. The nonacetylated masked caged ADPR derivative showed faster chemical hydrolysis in PBS buffer compared to the MeNV-ADPR, but cleavage of the pyrophosphate backbone of the masked compound was observed in HEK cell extract. As a reference, the unmasked caged ADPR derivatives and the P_{β} -photolabile-masked ADPR derivatives were investigated in hydrolysis studies. The caged ADPR derivatives showed no susceptibility to hydrolysis and accordingly could be converted to free ADPR by photolysis. In contrast, rapid decomposition of the P_{β} -photolabile-masked ADPR derivatives occurred in both PBS buffer and HEK cell extract. Accordingly, the newly synthesized caged ADPR derivatives provide higher stability than the P_{β} -caged ADPR derivatives and thus are more suitable for cellular applications. The hydrolysis experiments of the combinatorial-masked ADPR derivatives showed no decomposition in PBS buffer, but ester cleavage was observed exclusively for the heptanoyl derivative. A possible "lock-in" effect is thus reduced, but of all the synthesized caged ADPR derivatives as well as the derivative known from the literature, the bioreversibly masked derivatives are expected for the most suitable use in cellular systems because, despite slow ester cleavage, an increase in lipophilicity is achieved, a direct release of free ADPR from these compounds is possible, and they show high stability in aqueous media.

3 Einleitung

Um das Leben eines Organismus, z.B. eines Menschen, zu schützen, muss dieser sich in für den Organismus gefährlichen oder schädlichen Situationen verteidigen können. Diese Verteidigung beschränkt sich nicht nur auf die makroskopische Ebene sondern auch auf mikrobiologischer Ebene, da konstanter Kontakt zu diversen schädlichen infektiösen und nichtinfektiösen Faktoren, wie z.B. Bakterien oder Viren bzw. chemischen Pathogenen, besteht.^[1,2] Aus diesem Grund hat sich evolutionär das Immunsystem als Verteidigungsmechanismus durchgesetzt.^[3] Hierbei wird zwischen dem angeborenen und dem erworbenen Immunsystem unterschieden.^[4] Neben ihrer Wirkungsweise unterscheiden sich die beiden Immunsysteme auch in ihrer Reaktionsgeschwindigkeit. Während die vergleichsweise langsamere Immunantwort des erworbenen Immunsystems meist höher entwickelten Lebewesen, wie z.B. Wirbeltieren, vorbehalten ist, können Verteidigungsmechanismen des angeborenen Immunsystems selbst in simpleren Organismen beobachtet werden.^[3-5] Im Allgemeinen stellt die Immunantwort des angeborenen Immunsystems die erste Reaktion eines Organismus auf Pathogene dar und wird in der Regel ausgelöst, wenn Gewebe beschädigt wird und gleichzeitig Kontakt zu infektiösen mikrobiologischen Stimuli besteht.^[1,6] Hierbei wird im Organismus eine Entzündungsreaktion (auch Inflammation genannt) ausgelöst. Erste Dokumentationen von Entzündungsreaktionen am menschlichen Organismus wurden bereits vor ca. 2000 Jahren vom römischen Arzt Aulus Cornelius Celsus festgehalten. Er beschrieb die Rötung und Schwellung von betroffenem Gewebe, verbunden mit Schmerzen und Wärmeentwicklung als die charakteristischen Symptome einer Entzündungsreaktion bzw. Inflammation, weshalb er diesen Prozess nach dem lateinischen Wort *inflammare* (deutsch: etwas anzünden) benannte.^[7,8] Diese Symptome sind die Folgen der unspezifischen Immunantwort auf beschädigtes und kontaminiertes Gewebe, da der Organismus durch erhöhten Blutfluss verstärkt Leukozyten zum betroffenen Gewebe transportiert, die dort das Pathogen bekämpfen bzw. eine weitere Ausbreitung von Pathogenen verhindern sollen.^[1,4,6] Diese inflammatorische Antwort wird nach Beschädigung und Kontamination des Gewebes induziert, indem Pathogen-assoziierte Molekülstrukturen (*pathogen-associated molecular pattern*, PAMP) mikrobiologischer Herkunft oder auch Gefahren-assoziierte Molekülstrukturen (*danger-associated molecular pattern*, DAMP) aus beschädigten wirtseigenen Zellen von Immunzellen durch Mustererkennungsrezeptoren (*pattern-recognition receptors*, PRR) erkannt werden.^[2] Die Aktivierung der PRRs lösen komplexe Signalkaskaden aus, die die Produktion und Freisetzung von diversen inflammatorischen Cytokinen, Proteinen und Enzymen bewirken.^[2] Durch diese werden Leukozyten, zum Großteil Neutrophile, zum Zentrum der Inflammation geführt, welche dort infektiösen Mikroorganismus töten bzw. das Pathogen entfernen und die Heilung des Gewebes initiieren.^[9,10] Dies erreichen die Neutrophile via oxidativen Burst durch Phagozytose von Pathogenen und pro-inflammatorisch

wirkenden Überresten von Zellen, was die Aktivierung der Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (NADPH) Oxidase zur Folge hat.^[9,11] Dieses Enzym produziert Superoxidanionen (O_2^-), eine reaktive Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS), welche die Produktion weiterer ROS induziert. ROS-Verbindungen sind beispielsweise, neben dem Superoxidanion, auch Hydroxyl- ($\cdot OH$) und Hydroperoxylradikale ($\cdot OOH$) sowie Wasserstoffperoxid.^[11] ROS werden in das via Phagozytose erhaltene Phagosom, aber auch in die nähere extrazelluläre Umgebung der Neutrophile freigesetzt, wo sie mikrobizide Eigenschaften besitzen und so infektiöse Pathogene eliminieren sollen.^[11] Wasserstoffperoxid kann außerdem im Kontext der Inflammation in der Nähe des betroffenen Gewebes als Signalmolekül von weiteren Leukocyten erkannt werden, die anschließend entgegengesetzt zum Gradienten in Richtung des erkannten Pathogens migrieren und somit die Immunantwort unterstützen.^[11-13] Durch diesen Ablauf der Immunantwort kann die kurzzeitige bzw. akute Inflammation grundlegend als vorteilhaft für den betroffenen Organismus bezeichnet werden, sofern die pathogenen Faktoren erfolgreich von den Neutrophilen bekämpft werden konnten, das Gewebe repariert und homöostatische Bedingungen wiederhergestellt wurden.^[6] Sollte es dem angeborenen Immunsystem nicht gelungen sein, die Pathogene ausreichend zu eliminieren und weiterhin inflammatorische Mediatoren freigesetzt werden, geht die Inflammation in die chronische Phase über.^[1,2] Sollte bei einer andauernden chronischen Entzündungsreaktion die (Über-)Produktion und Freisetzung von ROS zur Pathogenbekämpfung nicht mittels Antioxidantien ausgeglichen werden können, ist das betroffene Gewebe oxidativem Stress ausgesetzt.^[11] Ein unausgeglichener Redoxstatus mit Schwerpunkt auf Seiten der Oxidation kann beispielsweise die Oxidation von ungesättigten Lipiden zur Folge haben, wodurch die Zellmembranen beschädigt werden und auch potentiell cytotoxische Produkte entstehen. Die Oxidation von Aminosäuren in Proteinen kann deren Funktion einschränken und durch Oxidation des Erbguts, die Desoxyribonukleinsäure (DNA), kann dieses an einem oder beiden Strängen brechen.^[13] Außerdem wird die Wahrscheinlichkeit einer Mutation der DNA durch Oxidation von Guanin zu 8-Oxoguanin erhöht, da 8-Oxoguanin bevorzugt mit Adenin anstatt Cytosin paart.^[14] Diese permanenten Schädigungen an einer Zelle führen zum Zelltod oder zur Ausbildung von Krebszellen, weshalb oxidativer Stress zu Schäden an wirtseigenem Gewebe führen kann.^[11,13] Aus diesem Grund wird eine chronische Inflammation bzw. oxidativer Stress mit der Ausbildung diverser Krebs-/Erkrankungen in Verbindung gebracht.^[2] Ein anfälliges Organ für inflammatorisch-induzierte Pathogenese ist die Leber, da diese permanent nicht-infektiösen Pathogenen, wie beispielsweise Wirkstoffen, ausgesetzt ist. Diese Pathogene können wirtseigene Zellschädigungen bewirken, was DAMP-Freisetzung, und so eine inflammatorische Antwort zur Folge hat.^[2] Als pathogenes Beispiel verläuft in 50-80% der Fälle eine Infektion mit dem Hepatitis C Virus (HCV) chronisch, sodass mit erhöhter Wahrscheinlichkeit Leberschäden auftreten können. So kann eine HCV induzierte

Inflammation Leberzellen töten, was zuerst eine Fibrose zur Folge hat, welche sich in Verbindung mit äußeren Faktoren (als prominenteste Beispiele Alkoholismus, Diabetes oder Fettleibigkeit) zur Zirrhose entwickeln kann. HCV Infektionen werden mit einem erhöhten Krebsrisiko in Verbindung gebracht, da bei 1-4% der Zirrhose-betroffenen HCV-Patienten Leberzellkarzinome beobachtet werden.^[15,16] Weitere Krankheiten, die mit Inflammation in Verbindung gebracht werden, sind z.B. Asthma und die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (*chronic obstructive pulmonary disease*, COPD), welche in 90% der Fälle auf eine inflammatorische Antwort des Lungengewebes auf Zigarettenrauch zurückzuführen ist. Ebenso Erkrankungen des Gehirns bzw. des zentralen Nervensystems, wie Alzheimer und Parkinson, sind unter anderem auf inflammatorische Reaktionen in den Geweben zurückzuführen. Andere anfällige Organe sind der Verdauungstrakt (z.B. Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) sowie Herz, Nieren und das Fortpflanzungssystem.^[2] Während inflammatorische Prozesse in der Tumorgenese einiger Krebserkrankungen eine entscheidende Rolle spielen, werden pro-inflammatorische Reize auch zur Bekämpfung von Krebserkrankungen verwendet.^[5] Die klassischen Anwendungen zur Krebstherapie sind operative Eingriffe, Chemo- und Radiotherapie. Operationen können unter anderem eine Aktivierung von Signalwegen bewirken, die der betroffene Organismus als Stress oder Infektion deuten kann und so eine Immunantwort im betroffenen Gewebe bewirkt.^[16] Chemo- und Radiotherapie lösen im Krebs- und umliegenden Gewebe Nekrosen aus, bei dem die absterbenden Zellen DAMPs freisetzen und so pro-inflammatorische Bedingungen im Gewebe entstehen. Diese bewirken die Aktivierung und Migration von Immunzellen in dem Gewebe, welche anschließend das Karzinom idealerweise bekämpfen.^[5,16] Inflammation spielt sowohl in der Entstehung von Erkrankungen an diversen Organen, bis hin zur Entstehung von Tumoren, als auch der Tumorbekämpfung eine wichtige Rolle. Aus diesem Grund stellt das System der Inflammation ein wichtiges potentiell therapeutisches Ziel in der Prävention und Therapie dieser Krankheiten dar.^[16] So ist es essentiell inflammatorische Prozesse näher zu untersuchen und besser zu verstehen, um beispielsweise sowohl die Pathogenese aufgrund chronischer Inflammation besser unterbinden und therapeutische Ansätze effektiver auf das jeweilige Krankheitsbild anpassen zu können.^[16]

4 Kenntnisstand

4.1 Ionenkanäle in inflammatorischen Prozessen

Zur Prävention von inflammatorisch-induzierter Pathogenese bzw. zur Behandlung von daraus resultierten Erkrankungen gilt es, die Immunantwort genauer zu verstehen. Daraus folgend können gezielte Aktivierungen von anti-inflammatorischen bzw. gezielte Verminderung von pro-inflammatorischen Faktoren das Redoxgleichgewicht eines entzündeten Gewebes wiederherstellen, was weitere unspezifische Gewebsschäden verhindert und die Heilung des Gewebes ermöglicht. Als potentielle pharmakologisch behandelbare Targets ist eine Familie von Ionenkanälen, die Familie der *transient receptor potential* (TRP) Ionenkanäle, in den Fokus gerückt, welche eine signifikante Beteiligung bei der Pathogenese einer Vielzahl von unterschiedlichen Krankheiten zugeschrieben wird.^[17,18] Die TRP Ionenkanalfamilie von Säugetieren besteht aus 28 Ionenkanälen, die abhängig ihrer Sequenzhomologie in sechs Unterfamilien aufgeteilt werden kann: TRP *ankrin* (TRPA), TRP *canonical* (TRPC), TRP *melastatin* (TRPM), TRP *mucoipins* (TRPML), TRP *polycystin* (TRPP) und TRP *vanilloid* (TRPV).^[17-19] Die Expression der Kanäle erfolgt unter anderem in Nervenzellen und Immunzellen. Am Beispiel der Nervenzellen dienen sie in der Regel als zelluläre Sensoren, für beispielsweise Schmerzen, und werden durch unterschiedliche Liganden oder auch bestimmte Temperaturen aktiviert. Die Aktivierung der transmembranen Ionenkanäle bewirkt einen nicht-spezifischen Ioneneinstrom, wobei der Einstrom von Calcium(II)ionen (Ca^{2+}), bei manchen Vertretern zusätzlich auch Magnesium(II)ionen (Mg^{2+}), ins intrazelluläre Medium von größerer Bedeutung ist.^[17-19] Die daraus folgende erhöhte Konzentration an intrazellulären Ca^{2+} -Ionen ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) dient als Signalmechanismus, welcher verschiedenste Zellprozesse, wie bspw. Zellproliferation oder -migration, beeinflussen und damit pro- bzw. anti-inflammatorische Effekte bewirken kann.^[18,20] Der erste Vertreter der TRPV Unterfamilie TRPV1 wird in sensorischen Nervenzellen exprimiert und spielt eine entscheidende Rolle beim Schmerzempfinden sowie bei der Ausbildung von erhöhter Schmerzempfindlichkeit (Hyperalgesie) nach Kontakt mit schädlich hohen Temperaturen ($> 43\text{ °C}$).^[18,21] Aus beschädigtem Gewebe freigesetztes Adenosintriphosphat (ATP) bewirkt indirekt eine Absenkung des Temperaturschwellenwerts, der zur Aktivierung von TRPV1 benötigt wird, auf die der normalen Körpertemperatur.^[18] Neben der Aktivierung durch erhöhte Temperatur, können auch ROS oder verschiedene Liganden den Kanal aktivieren.^[18] Hierzu zählt bspw. auch das Vanilloid Capsaicin, der für Schärfeempfinden verantwortliche Inhaltsstoff von Chilischoten, weshalb in Nervenzellen durch Aktivierung von TRPV1 bei Bindung dieses Liganden das Signal für erhöhte Temperatur vermittelt wird.^[18,21] Über diesen Effekt konnte bspw. auf eine erhöhte Expression von TRPV1 im Lungengewebe von Asthmatikern und COPD-Erkrankten durch einen verstärkten Hustenreiz nach Capsaicin-Inhalation geschlossen

werden.^[18] Eine weitere inflammatorisch-induzierte Erkrankung mit Verbindung zu TRPV1 ist die Arthritis. In Studien konnten bei TRPV1 *knock-out* (KO) Mäusen eine geringere Hyperalgesie und Schwellung von Gelenken nach induzierter Arthritis beobachtet werden.^[18,22] Durch Einsatz von Capsaicin konnte die Schwere der induzierten Arthritis vermindert werden,^[18] da TRPV1 durch einen erhöhten $[Ca^{2+}]_i$ -Gehalt desensitiviert wird. Dies erfolgt durch einen negativen Feedbackmechanismus, der abhängig von der Konzentration an Capsaicin und der Dauer der Kanalöffnung ausgelöst wird.^[23] Dies dient der Verhinderung einer cytotoxischen Konzentration an $[Ca^{2+}]_i$, hat aber zusätzlich durch diesen desensitiven Effekt auf nozizeptive Rezeptoren einen schmerzlindernden Effekt.^[23] Aufgrund dieses Effekts wurde Capsaicin vor den 90er Jahren bei diversen Krankheiten, wie Osteoarthritis oder peripherer Neuropathie, in hohen Dosen verabreicht, jedoch aufgrund der Nebenwirkung des stark brennenden Gefühls durch andere potentielle Antagonisten mit anti-inflammatorischen und analgetischen Effekten abgelöst, welche aber in klinischen Studien nicht überzeugen konnten.^[18] Aus einer anderen TRP Unterfamilie stellt bezüglich des sensorischen Effekts der Ionenkanal TRPM8 das Gegenstück zu TRPV1 dar, da dieser für die Kältewahrnehmung im ambienten und schadhafte Bereich von 26 °C - 8 °C verantwortlich ist. Neben kalten Temperaturen können auch Liganden eine Aktivierung von TRPM8 bewirken, die bekanntesten Vertreter davon sind Menthol und Icilin mit jeweils unterschiedlichen Aktivierungsmechanismen.^[18,24,25] Während Kühlen von entzündetem Gewebe bekanntermaßen einen positiven Effekt auf den Heilungsprozess des betroffenen Gewebes bewirkt, wird dieser Effekt aufgrund einer anti-inflammatorischen Wirkung durch die Kälte-induzierte Aktivierung von TRPM8 vermutet.^[25] In Tierversuchen an Mäusen konnten die anti-inflammatorischen Eigenschaften durch die Icilin-induzierte Aktivierung von TRPM8 und daraus resultierend ein milderer Krankheitsverlauf bei chemisch-induzierter Colitis beobachtet werden.^[18,25] Dies wird auf eine Unterdrückung der Freisetzung von *Calcitonin gene-related peptide* (CGRP) und daraus resultierend der Abschwächung des pro-inflammatorischen Effekts von TRPV1 in Colitiserkrankungen zurückgeführt.^[18,25,26] Aufgrund des anti-inflammatorischen Effekts wird TRPM8 als potentielles Target zur Therapie von Colitis- und weiteren chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen angesehen.^[25] Jedoch werden TRPM8 auch pro-inflammatorische Effekte zugeschrieben. Unter anderem konnte bei von inflammatorisch-induzierten Lungenerkrankungen betroffenen Menschen eine erhöhte TRPM8 Expression festgestellt werden, was indirekt durch einen verstärkten Hustenreiz nach Exposition mit kalter Luft und Menthol gezeigt werden konnte.^[18,27] Die TRPM8-Aktivierung wird hierbei mit einer verstärkten Expression von pro-inflammatorischen Cytokinen und Chemokinen in Verbindung gebracht. Aufgrund dessen wird die Inhibierung von TRPM8 auch als potentielles Target zur Asthmatherapie angesehen.^[27] Die angeführten Beispiele zeigen, dass TRP-Kanäle eng mit inflammatorischen Krankheiten verbunden sind, jedoch deren

Aktivierung bzw. Inhibierung sich jeweils vorteilhaft oder auch nachteilig auf die weitere Entwicklung des Krankheitsverlaufs bzw. Heilungsprozesses, abhängig vom betroffenen Gewebe und der untersuchten Krankheit, auswirken kann.^[18]

4.2 Transient receptor potential melastatin 2

Ein weiteres potentiell therapeutisches Target der TRP *melastatin* Unterfamilie ist der Ca^{2+} -permeable Ionenkanal TRPM2, welcher in vielen verschiedenen Gewebearten vorzufinden ist, darunter zum Beispiel im Gewebe des Knochenmarks, Milz, Herz, Leber, Lunge und am häufigsten im Gehirngewebe. Auch in Zellen des Immunsystems, wie Neutrophilen und Makrophagen, wird der Ionenkanal exprimiert.^[28] Der Kanal wird unter anderem durch oxidative Bedingungen aktiviert und ist an diversen Zellfunktionen und der Pathogenese diverser Krankheiten beteiligt.^[29] TRPM2 dient zum einen in den Neuronen des Hypothalamus als Sensor zum Erhalt einer Körpertemperatur von 37 °C,^[30] und fungiert außerdem als Sensor für den Glucose-Metabolismus in β -Zellen der Bauchspeicheldrüse. Dort ist er an der Ausschüttung von Insulin beteiligt, weshalb TRPM2 mit Typ II Diabetes in Verbindung gebracht wird und somit ein potentiell pharmakologisches Target zur Behandlung von Diabeteserkrankungen darstellt.^[29,31,32] Eine weitere sensorische Eigenschaft von TRPM2 gilt der Detektion von ROS und oxidativem Stress,^[33] welche zum Beispiel bei der Migration von Neutrophilen bei inflammatorischen Antworten genutzt wird, um diese entlang der ROS-Konzentration zu leiten. Im Zentrum des oxidativen Bursts angekommen, wird TRPM2 durch die hohe Konzentration an ROS oxidiert und dadurch aktiviert, welches den Abbruch des Migrationsprozesses der Neutrophile zur Folge hat und die Aktivierung weiterer bakterizider Signalwege induziert.^[34] Ein weiterer Einsatz von TRPM2 als ROS-Sensor konnte in Lungengewebe von Mäusen festgestellt werden. Hierfür wurde bei Mäusen via Lipopolysaccharid-Endotoxinen eine Entzündungsreaktion im Lungengewebe induziert, was bei TRPM2 KO Mäusen (TRPM2^{-/-}) zu einer vergleichsweise stärkeren pro-inflammatorischen Chemokin- und Cytokinproduktion als bei Wildtyp TRPM2^{+/+} Mäusen führte.^[35] Dies wird auf eine anti-inflammatorische Wirkung von TRPM2 zurückgeführt, die durch die Aktivierung von TRPM2 durch ROS und daraus resultierend der Kanalöffnung mit Ca^{2+} -Einstrom bewirkt wird. Der erhöhte Wert der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ dient der Aktivierung verschiedener Signalkaskaden als Antwort auf die pathogenen Faktoren.^[36] Zum Beispiel bewirkt die erhöhte $[\text{Ca}^{2+}]_i$ eine Depolarisierung des Membranpotentials, was einen direkten Effekt auf die ROS-Produktion durch die NADPH-Oxidase hat. Dessen Aktivität hängt stark vom vorliegenden Membranpotential ab, da Elektronen von NADPH-Molekülen im intrazellulären Raum auf extrazelluläre Sauerstoff-Moleküle entsprechend der Membranpolarisierung übertragen werden.^[35] Diese verringerte Aktivität der NADPH-Oxidase bewirkt eine verminderte ROS-Produktion, was eine geringere Wahrscheinlichkeit für Gewebeschäden durch erhöhte ROS-Konzentrationen im Gewebe zur

Folge hat.^[35] TRPM2 ist jedoch auch mit der Pathogenese einiger Erkrankungen des zentralen Nervensystems assoziiert, darunter bipolare Störungen und neurodegenerative Krankheiten, wie Alzheimer und Parkinson.^[28,29] Zusätzlich kann eine ischämische Attacke im Hirngewebe bzw. Schlaganfall mit anschließender Reperfusion, der Wiederaufnahme der Durchblutung des betroffenen Gewebes, eine Aktivierung von TRPM2 zur Folge haben, was zur Überladung der Zellen mit Ca^{2+} führen und im verzögerten Zelltod und damit weitreichenden Gewebeschäden resultieren kann.^[37,38] Es wird deutlich, dass TRPM2 in vielen pro- und anti-inflammatorischen Signalwegen und in der Pathogenese schwerer Erkrankungen involviert ist. Weitere Beispiele dafür sind TRPM2s Rollen bei Sepsis^[32] oder Krebserkrankungen.^[39] Die Rolle von TRPM2 in den Erkrankungen ist bisher nicht im Detail aufgeklärt, da die pathophysiologischen Eigenschaften von TRPM2 abhängig vom Gewebe und der entsprechenden Krankheit sind. Aus diesem Grund ist TRPM2 als potentiell therapeutisches Target in den Fokus gelangt und es gilt TRPM2 besser zu verstehen, die Lücken in den TRPM2-assoziierten Krankheitsprozessen zu schließen und entsprechende pharmakologische Werkzeuge zur therapeutischen Anwendung zu finden.^[28,32]

4.3 Struktur und Mechanismus von TRPM2

Das Gen, welches den Ionenkanal TRPM2 codiert, wurde erstmals 1998 in Japan von NAGAMINE *et al.* unter dem Namen *transient receptor potential-related channel 7* (TRPC7) aus menschlichem Hirngewebe isoliert und identifiziert, welches vorerst namensgebend für das codierte Protein war.^[36,40] Die Nomenklatur änderte sich in darauf folgender Literatur zu *long TRP channel 2* (LTRPC2), wobei sich die Namensgebung hier auf die vergleichsweise lange Gensequenz zur Codierung dieses Ionenkanals bezieht.^[41] In einem 2002 veröffentlichten Brief wurde von MONTELL *et al.* eine vereinheitlichte Nomenklatur für TRP Ionenkanäle vorgeschlagen, die die *long*-TRP Kanäle zur Melastatin-Unterfamilie zuordnete und abschließend den Namen TRPM2 etablierte.^[36,42] Das 90 kb lange TRPM2 Gen ist auf dem humanen Chromosom 21q22.3 zu finden, welches vollständig transkribiert und translatiert ein aus 1503 Aminosäuren bestehendes Protein mit einem Gesamtmolekulargewicht von ca. 170 kDa codiert (**Abb. 4.1 A**).^[29,36] Das Protein besteht aus vier Regionen. Auf der Seite des N-Terminus beginnt das Protein mit einer aus vier Untersegmenten (I - IV) bestehenden Region, welche die homologe Region für alle TRPM Kanäle darstellt und damit namensgebend für diese ist.^[32] Im intrazellulär vorliegenden Homologie-Segment III ist ein Calmodulin-bindendes IQ-Motiv vorhanden, welches die Bindung von intrazellulärem Ca^{2+} , nach Bindung dessen an Calmodulin, ermöglicht.^[32,43] In der Proteinsequenz folgen sechs transmembrane Domänen (S1 – S6), bei denen die Aminosäuresequenz zwischen den Domänen S5 und S6 eine Schleife bildet, die für die Ausbildung der Kanalpore verantwortlich ist.^[28] Darauf folgt ein Coiled Coil-Strukturmotiv und die Proteinsequenz wird durch eine Struktureinheit

abgeschlossen, welche eine Homologie zum *Nucleoside diphosphate-linked moiety x-type motif 9* Strukturmotiv aufweist, welches in der humanen Pyrophosphatase NUDT9 vorkommt und aufgrund dessen mit NUDT9-H abgekürzt wird (**Abb. 4.1 B**).^[29,44] Diese Proteinstruktur stellt ein Monomer dar, welches zusammen mit drei weiteren Monomeren als Tetramer in Zellmembranen verankert den Ionenkanal TRPM2 darstellt (**Abb. 4.1 C**).^[32]

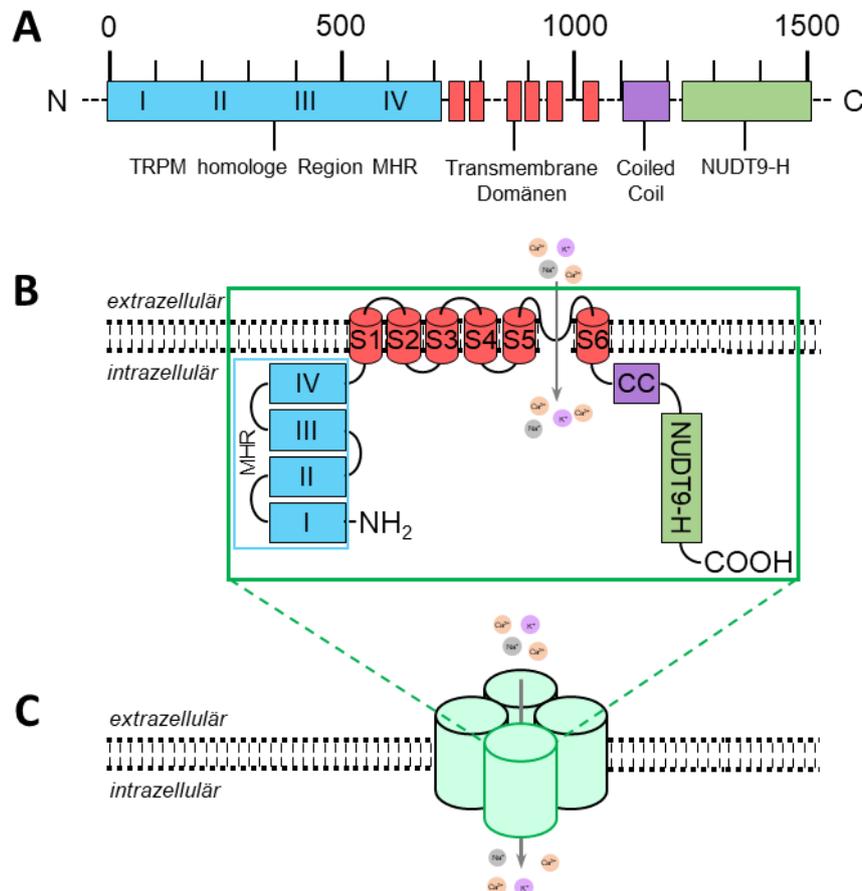


Abb. 4.1: Schematische Darstellung des Ionenkanals TRPM2. **A:** Schematische Darstellung der monomeren Proteinstruktur mit besonderen Strukturelementen. **B:** Schematische Darstellung der Topologie eines TRPM2 Monomers. **C:** Schematische Darstellung des vollständigen tetrameren TRPM2 Ionenkanals, bestehend aus vier TRPM2 Monomeren.^[28,29,32,36]

Für die Aktivierung und Öffnung von TRPM2 sind bisher unterschiedliche Wege bekannt. Die bekanntesten Agonisten sind Wasserstoffperoxid, Ca²⁺ und Adenosindiphosphat-Ribose 1 (ADPR, **Abb. 4.2**).^[36] Als Sensor für oxidativen Stress ist TRPM2 anfällig gegenüber ROS, z.B. Wasserstoffperoxid, und lässt sich durch oxidative Bedingungen aktivieren.^[45,46] Dies konnte an den TRPM Isoformen TRPM2-ΔC und TRPM2-ΔN gezeigt werden, welche beide Deletionen am C-Terminus bzw. N-Terminus aufweisen.^[32,47] TRPM2-ΔC weist eine Deletion von 20 Aminosäuren im MHR Segment auf (K538-Q557), bei der ΔN Isoform ist die Deletion im NUDT9-H Segment (T1292-L1325) lokalisiert.^[32] Während die TRPM2-ΔN Isoform nicht durch Wasserstoffperoxid aktiviert werden kann, ist dies bei der TRPM2-ΔC Isoform der Fall.^[32] Dies wird dadurch gestützt, dass bei der ΔC-Isoform die Aktivierung durch andere Agonisten

unterbunden ist.^[32] Dies lässt darauf schließen, dass Wasserstoffperoxid in der MHR Domäne eine von anderen Agonisten unabhängige Aktivierung von TRPM2 ermöglicht. Die Aktivierung durch ROS bzw. Wasserstoffperoxid wird in den meisten Zellapplikationen zur Untersuchung von TRPM2 bzw. dessen Signalwegen verwendet, indem die Zelle bzw. der Kanal durch Zusatz von Wasserstoffperoxid in höheren mikromolaren Konzentrationen aktiviert wird.^[46] Ein weiterer Aktivator für TRPM2 stellt $[Ca^{2+}]_i$ dar, welches bei einer mittleren effektiven Konzentration (EC_{50}) von ca. 17 μM den Kanal öffnen kann.^[28,43] Die Bestimmung des EC_{50} -Werts erfolgte jedoch mit Chelatoren, weshalb angenommen wird, dass der wahre Wert geringer sein sollte.^[43] Für die Aktivierung durch $[Ca^{2+}]_i$ ist die Bindung von Ca^{2+} an Calmodulin und dessen Produkt an das Calmodulin-bindende IQ-Motiv im N-Terminus essentiell.^[28,43]

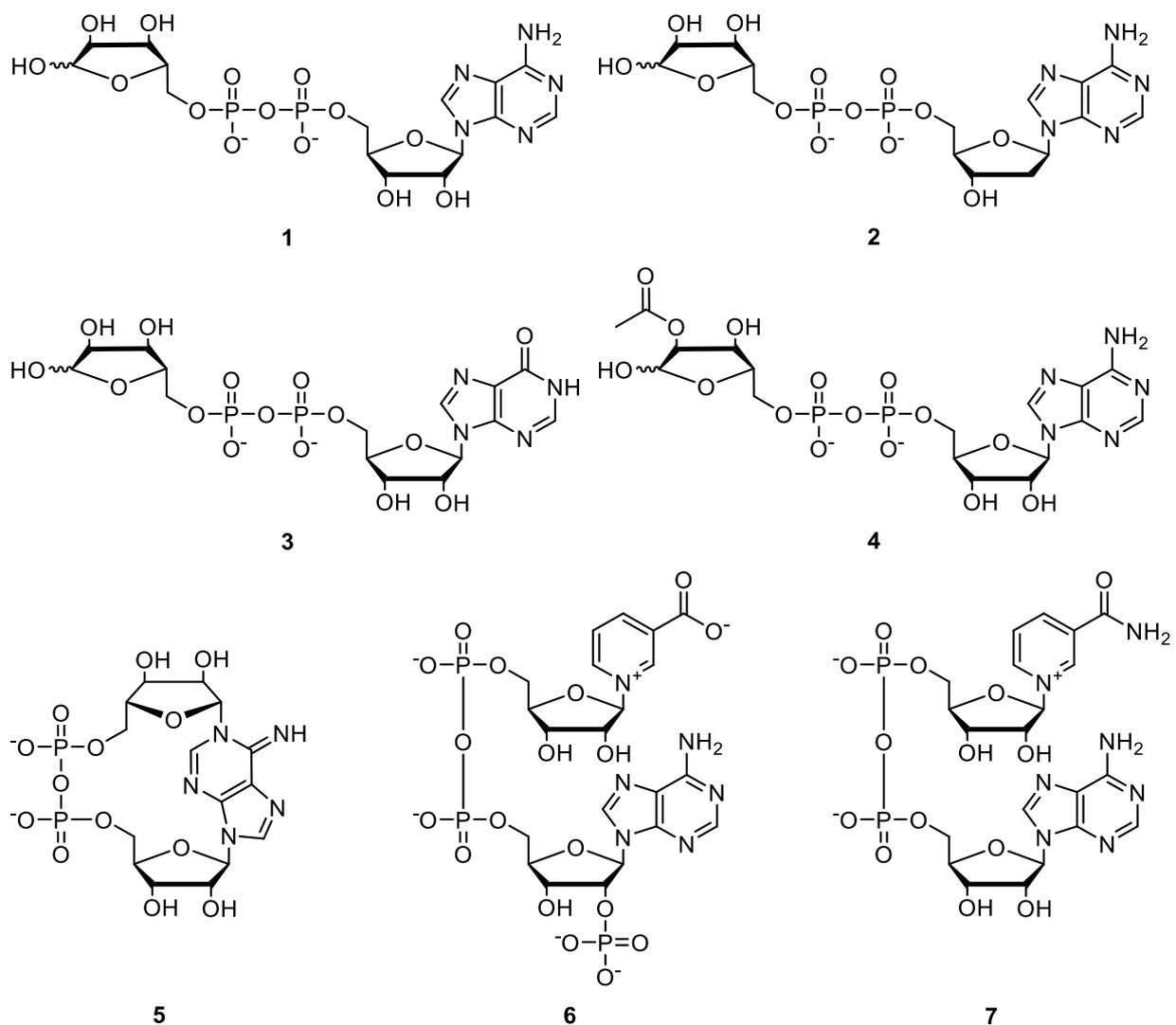


Abb. 4.2: Strukturformeln von Adenosindiphosphat-Ribose **1** (ADPR), 2'-Desoxyadenosindiphosphat-Ribose **2** (dADPR), Inosindiphosphat-Ribose **3** (IDPR), 2''-O-Acetyladenosindiphosphat-Ribose **4** (OAADPR), cyclische Adenosindiphosphat-Ribose **5** (cADPR), Nicotinsäureadenindinucleotidphosphat **6** (NAADP) und Nicotinamidadenindinucleotid **7** (NAD^+).

Der jedoch wichtigste Agonist von TRPM2 ist Adenosindiphosphat-Ribose 1 (ADPR), welches nach intrazellulärer Freisetzung mit einem EC_{50} -Wert von 1 – 90 μ M (abhängig vom Zelltyp) den Kanal öffnen kann.^[36] Die Bindung von ADPR 1 an TRPM2 erfolgt an die NUDT9-H Domäne, welche Homologie (39%) zur humanen ADPR 1 Pyrophosphatase NUDT9 aufweist.^[36,48] Wenn NUDT9-H einzeln exprimiert vorliegt, wird eine Pyrophosphatase-Aktivität zu Adenosinmonophosphat (AMP) und Ribose-5-phosphat beobachtet, weshalb vermutet wird, dass die TRPM2-gebundene NUDT9-H Domäne ebenfalls als Pyrophosphatase fungiert und ADPR nach Kanalöffnung hydrolysiert wird.^[32,49] Dadurch wurde TRPM2 zuerst als *Chanzyme* (*channel enzyme*) betitelt, ob TRPM2 jedoch wirklich ADPR Pyrophosphatase-Aktivität besitzt ist noch unklar, da auch gezeigt werden konnte, dass kein ADPR 1 Abbau nach Kanalbindung erfolgt.^[50,51] Es wurde ein weiteres Bindungszentrum in der MHR Domäne entdeckt, welches ebenfalls ADPR 1 für eine Kanalöffnung binden muss.^[52] ADPR 1 allein ist jedoch nicht in der Lage TRPM2 nach Bindung an NUDT9-H und MHR vollständig zu öffnen, sondern versetzt diesen nur in einen angeregten Zustand.^[48] Zur vollständigen Öffnung des Kanals müssen anschließend Ca^{2+} -Ionen als Coaktivator auf intrazellulärer Seite zwischen den transmembranen Domänen gebunden werden.^[48,53] Diese Abhängigkeit von Ca^{2+} konnte durch Abwesenheit von $[Ca^{2+}]_i$ und durch stark Ca^{2+} -gepufferte (< 30 nM) Zellsysteme bestätigt werden, da dabei keine Kanalöffnung von TRPM2 durch ADPR erfolgte.^[36] Ein weiterer Agonist wurde von FLIEGERT *et al.* entdeckt, indem ADPR-Derivate mit diversen Modifikationen in ihren Eigenschaften zur Erhöhung der Stromstärke an humanem TRPM2 untersucht wurden. Hierbei stellte sich 2-Desoxyadenosindiphosphat-Ribose 2 (dADPR, **Abb. 4.2**) als besonders potenter Agonist heraus, da in Zelltests nur 30 μ M dADPR 2 benötigt wurden, um vergleichbare Spannungen zu den von 100 μ M ADPR 1 induzierten Spannungen zu beobachten.^[54] In Untersuchungen der Konzentrationsabhängigkeit der induzierten Spannungen konnte dADPR 2 10.4-fach höhere Spannungen induzieren, weshalb FLIEGERT *et al.* dADPR 2 als Superagonist von TRPM2 klassifizieren.^[54] Ebenfalls löst das Derivat Inosindiphosphat-Ribose 3 (IDPR, **Abb. 4.2**) agonistische Effekte an TRPM2 aus, dies gilt jedoch bei humanen TRPM2 Kanälen ab einer Konzentration > 1 mM.^[55] Den vergleichsweise stärkeren agonistischen Effekt zeigt IDPR 3 in TRPM2 Kanälen der Seeanemone *Nematostella vectensis* (NvTRPM2), die Änderung der Stromstärke erfolgte jedoch mit einer Verzögerung von einer Minute gefolgt von einer schnelleren Inaktivierung des Kanals im Vergleich zu ADPR-induziertem Ioneneinstrom. Die Aktivierung erfolgt bei einer IDPR-Konzentration von 300 μ M, jedoch nicht mehr bei einer Konzentration von 150 μ M.^[55] Ein weiterer ADPR-ähnlicher Agonist ist 2'-O-Acetyladenosindiphosphat-Ribose 4 (OAADPR, **Abb. 4.2**), welches mit einem EC_{50} -Wert zwischen 50 – 100 μ M an der NUDT9-H Domäne bindet und die Kanalöffnung aktiviert.^[32,36,56] Es wurde in der frühen Literatur zu TRPM2 gezeigt, dass mit einem EC_{50} -Wert von 0.7 mM auch das cyclische Adenosindiphosphat-

Ribose **5** (cADPR, **Abb. 4.2**) TRPM2 aktivieren kann.^[32] Es wird jedoch vermutet, dass diese agonistische Aktivität mit hoher Wahrscheinlichkeit bei kommerziell erhältlichem cADPR **5** auf Verunreinigungen mit bis zu 20% ADPR **1** zurückzuführen ist.^[57,58] Dies wird auf die Labilität der N1-glycosidischen Bindung bei schwach aciden Bedingungen zurückgeführt, welche eine chemische Hydrolyse des cADPRs **5** zu ADPR **1** mit einer Halbwertszeit von zehn Tagen bei Raumtemperatur bevorzugt.^[58] Bei einer cADPR **5** Stammlösung bewirkte ein selektiver enzymatischer Abbau des entstandenen ADPR **1** mit Nucleotidpyrophosphatase, dass cADPR keine TRPM2 Kanäle mehr öffnet. Dies lässt darauf schließen, dass stets die ADPR Verunreinigungen in cADPR-Stammlösungen für die Kanalöffnung verantwortlich waren, jedoch cADPR selbst kein Agonist von TRPM2 ist.^[57,58] Es wird cADPR **5** jedoch einen synergistischen Effekt bei der ADPR-induzierten TRPM2 Aktivierung gutgeschrieben, sodass 10 µM cADPR die ADPR-Sensitivität von TRPM2 in einen nanomolaren Bereich verschiebt.^[28,36] Ebenso synergistisch wirkt sich die Präsenz von Nicotinsäureadenin-dinucleotidphosphat **6** (NAADP, **Abb. 4.2**) auf die TRPM2 Aktivierung aus, wobei NAADP auch alleine mit einem EC₅₀-Wert von 0.73 mM als Agonist fungieren kann.^[28,32,36] Dem NAADP strukturell ähnlich ist das Nicotinamidadenindinucleotid **7** (NAD⁺, **Abb. 4.2**), welches TRPM2 mit recht hohen effektiven Konzentrationen von 1 - 1.8 mM öffnen kann. Es ist jedoch nicht eindeutig, ob diese Aktivität von NAD⁺ **7** selbst ausgeht, oder ob der Abbau von NAD⁺ **7** zu ADPR die Kanalöffnung bewirkt, da die Aktivierung des Kanals in der Literatur nicht immer reproduzierbar war.^[28,29] Es wird deutlich, dass von den erwähnten Molekülen nur ADPR **1**, dADPR **2** und OAADPR **4** TRPM2 mit geringen EC₅₀-Werten eindeutig aktivieren können.

4.4 Biosynthese von nucleotidischen TRPM2-Agonisten

Die Biosynthese des TRPM2 Agonisten ADPR **1** kann auf verschiedenen Signalwegen erfolgen.^[36] Die bekanntesten Routen hierfür erfolgen entweder durch Freisetzung aus Mitochondrien, dem Zellkern oder durch das Ectoenzym CD38 (*cluster of differentiation 38*, siehe **Abb. 4.3**).^[28,36] Es wird vermutet, dass die Mitochondrien für den größten Anteil der ADPR-Produktion nach oxidativem Stress verantwortlich ist.^[59] Diese Vermutung beruht auf der Tatsache, dass die Biosyntheserouten von ADPR auf NAD⁺ **7** als Ausgangsverbindung basieren und in den Mitochondrien > 50% der gesamten intrazellulären Pyridin-basierenden Nucleotide vorliegen, darunter mindestens 75% des gesamten zellulären NAD⁺-Anteils.^[59,60] Die mitochondriale ADPR-Produktion wird initial durch oxidativen Stress ausgelöst, welcher die Aktivierung der mitochondrialen NADase zur Folge hat, welche in der äußeren Mitochondrienmembran lokalisiert ist.^[46,59] Das NAD⁺ **7**, welches zur NADase-vermittelten Umsetzung zu ADPR **1** benötigt wird, liegt nur in der mitochondrialen Matrix vor und die innere Mitochondrienmembran ist nicht gegenüber NAD⁺ **7** permeabel.^[59] Es wurde von AYUB *et al.* die Hypothese aufgestellt, dass durch oxidativen Stress die Öffnung der mitochondrialen

Permeabilitäts-Transitions-Pore (MTP) folgt, welche gegenüber Molekülgrößen bis zu 1500 kDa durchlässig ist, und damit den Austritt von NAD⁺ 7 aus der Matrix zur NADase ermöglicht. Die NADase katalysiert anschließend die Hydrolyse von NAD⁺ 7 zu ADPR 1, welches in das Cytosol freigesetzt wird und dort TRPM2 aktivieren kann.^[59,60] Die Hypothese konnte durch den Einsatz eines MTP-Inhibitors gestützt werden, welcher den Transport von NAD⁺ zur NADase bzw. die ADPR-Freisetzung ins Cytosol komplett unterdrückte.^[59,61] Der genaue Signalweg der mitochondrialen ADPR-Produktion ist jedoch nicht weiter geklärt.^[32]

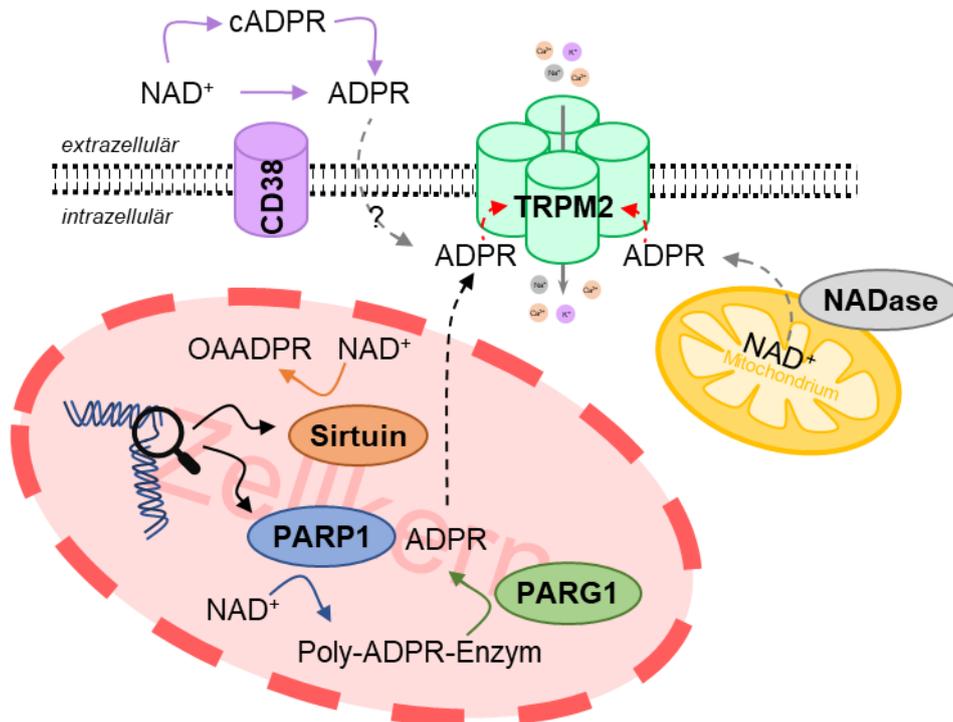


Abb. 4.3: Schematische Darstellung verschiedener Biosyntheserouten der TRPM2 Agonisten ADPR 1 und OAADPR 4. Die Synthese kann in den Mitochondrien, dem Zellkern oder durch CD38 erfolgen.^[36,59]

Sollte das Genom einer Zelle im Zusammenhang mit oxidativem Stress ROS-induzierten Schaden nehmen und daraus resultierend Einzel- oder Doppelstrangbrüche der DNA auftreten, wird ein weiterer Signalweg zur ADPR-Produktion aktiviert.^[36,62] Das nucleäre Enzym Poly(ADPR)-Polymerase (PARP1) erkennt den Schaden durch Bindung am Genom, erfährt eine 10- bis 500-fache Steigerung der enzymatischen Aktivität und katalysiert nachfolgend die Polymerisation von NAD⁺-Monomeren zu Poly(ADP-Ribosyl)-Modifikationen an zellulären Enzymen.^[62] Hierbei werden mehrere Stufen durchlaufen: In der ersten Stufe wird die Modifizierung des Proteins initiiert, indem eine erste ADP-Ribosyleinheit an das Akzeptorenzym angefügt wird. Anschließend wird die Kettenverlängerung katalysiert, bei dem an der 2'-Position der zuletzt angefügten Einheit das nächste Monomer glycosidisch mit der 1''-Position verknüpft wird. Nach 20-50 angefügten Monomeren kann es zu einer Verzweigung des Polymers kommen, indem an der 2''-Position der terminalen Ribose der zuletzt angefügten Einheit ein weiteres Monomer glycosidisch angefügt und die Kette auch an diesem verlängert wird.^[62] Die Poly(ADP-Ribosyl)-Modifikationen von Enzymen dienen der Regulierung der

enzymatischen Aktivität der modifizierten Proteine, welche in der Regel direkt mit Reparaturprozessen des Genoms assoziiert sind.^[62] PARP1 unterläuft dabei auch einer autokatalytischen Reaktion, in der es sich selbst mit Poly(ADP-Ribosyl)-Einheiten modifiziert. Mit zunehmender Polymerlänge verliert PARP1 zunehmend an Affinität zur DNA-Bindung, bedingt durch die steigende negative Nettoladung des Polymers und daraus resultierender polarer Abstoßung zur DNA.^[62] Die Polymere werden anschließend schnell von der Poly(ADPR)-Glycohydrolase (PARG) abgebaut. Die Halbwertszeit des Abbaus durch PARG konnte *in vivo* auf unter eine Minute ermittelt werden. Dabei kann PARG als Endoglycosylase fungieren und das gesamte Polymer vom modifizierten Protein trennen. Das freigesetzte ADPR-Polymer kann mit Histonen oder anderen nucleären Enzymen interagieren,^[62] oder von PARG in die einzelnen ADPR 1 Monomere zerlegt werden, welche anschließend ins Cytosol freigesetzt werden und dort TRPM2 aktivieren können.^[62,63] Unter anderem wird auch im Zellkern der Agonist OAADPR 4 durch spezifische Deacetylasen, den Sirtuinen, freigesetzt, welche im Gen-Silencing oder zur Anpassung des Metabolismus zum Schutz vor ROS Anwendung finden.^[64] Sirtuine katalysieren zum Beispiel die Deacetylierung von Lysin-Resten in Histonen oder anderen Enzymen, indem die glycosidische Bindung von NAD⁺ 7 gespalten, die entsprechende Acetatgruppe auf die 2“-Position der terminalen Ribose übertragen und daraus resultierend Nicotinamid, das deacetylierte Enzym und OAADPR 4 freigesetzt werden.^[64] Bei neutralem pH isomerisiert OAADPR 4 durch intermolekulare Umesterung zu einem Gemisch aus zwei Verbindungen, welches jeweils zur Hälfte aus dem 2“-acetylierten und dem 3“-acetylierten OAADPR 4 besteht.^[64] Es konnte jedoch gezeigt werden, dass OAADPR 4 durch zelluläre Enzyme relativ schnell zu ADPR 1 hydrolysiert wird.^[64,65] Das Ectoenzym CD38 ist neben der Synthese von cADPR 5 und NAADP 6 auch in der Lage, im extrazellulären Raum ADPR 1 aus NAD⁺ 7 herzustellen, sei es über die Cyclisierung zu cADPR 5 mit anschließender ringöffnender Hydrolyse oder durch direkte Hydrolyse von NAD⁺ 7.^[36] Die CD38-abhängige Synthese von freiem ADPR 1 wird auch mit einer Signalkette zur TRPM2 Aktivierung in Verbindung gebracht, jedoch ist es nicht geklärt, wie das extrazellulär gebildete ADPR 1 die Zellmembran passieren und somit für eine agonistische Wirkung an TRPM2 führen kann.^[28,36]

Allein die ADPR-abhängige Aktivierung von TRPM2 kann über mehrere Signalwege erfolgen. Zusätzlich wird der Großteil der erwähnten Agonisten als Resultat aus zellstressenden Faktoren erhalten, die meist auch andere Zellprozesse beeinflussen können. Dies erschwert die Aufklärung der ROS-induzierten TRPM2-beinhaltenen Signalkaskaden, weshalb hierfür eine direkte Applikation der Agonisten, ohne weiteren Zellstress zu induzieren, zum gezielten Entschlüsseln der TRPM2-Prozesse hilfreich wäre.

4.5 Maskierungskonzepte zur Lipophiliesteigerung

Um die Signalkaskade von TRPM2 und anderen signalgebenden Ionenkanälen zur Ca^{2+} -Freisetzung in Zellen zu untersuchen, werden die angeführten Signalmoleküle, wie NAADP **6**, cADPR **5** oder auch ADPR **1**, aufgrund ihrer hohen Polarität bisher durch potentiell invasive Methoden, wie Elektroporation, Mikroinjektion oder via *patch-clamp*-Pipette, direkt in die Zelle appliziert.^[66] Diese Methoden sind als invasiv zu verstehen, da sie bereits durch Anwendung an Zellsystemen Stress auslösen können. Zum Beispiel wird dies bei der Elektroporation auf den unkontrollierten Einfluss von extrazellulären Molekülen und dem Ausfluss von intrazellulären Substanzen und der daraus resultierenden Entstehung eines chemischen Ungleichgewichts in der Zelle zurückgeführt.^[67] Bei der Mikroinjektion wird ein physikalischer Stress auf die Zelle ausgeübt, auf den die Zelle mit entsprechender Signalauslösung reagieren kann.^[68] Da dementsprechend diese potentiell zellstressenden Methoden zur Beeinträchtigung der Beobachtungen führen können, wird eine möglichst nicht-invasive Applikationsmethode benötigt.

Ein Blick in die pharmazeutische Anwendung von bioaktiven Stoffen offenbart die Möglichkeit der Nutzung diverser chemischer Tools, um eine passive und damit nicht-invasive Zellaufnahme der Agonisten zu ermöglichen. Besitzt ein Molekül zwar ausreichende Bioaktivität, weist jedoch in anderen Aspekten nachteilige Eigenschaften auf, wie unter anderem eine geringe Löslichkeit, chemische oder enzymatische Stabilität oder unzureichende Membranpermeabilität, kann es durch gezielte chemische, meist reversible Modifizierungen in den genannten Punkten für eine effektivere Wirkstofffreisetzung im Organismus verbessert werden.^[69] Diese Anpassung der pharmakodynamischen und -kinetischen Eigenschaften eines Wirkstoffes wird als *Prodrug*-Konzept bezeichnet. Im Fall eines *Prodrugs*, dessen Modifizierung eine erhöhte Membranpermeabilität ermöglichen soll, wird dies in der Regel durch Erhöhung der Lipophilie des Moleküls erreicht und setzt darauf, dass die modifizierte Verbindung nach erfolgreicher Resorption im Zielgewebe durch zelleigene Prozesse in den aktiven Wirkstoff überführt wird (siehe **Abb. 4.4**).^[69,70] Eine erhöhte Lipophilie kann über verschiedene chemische Modifizierungen erreicht werden, darunter zum Beispiel die bioreversible Derivatisierung von polaren Substituenten, wie Hydroxygruppen, oder der Maskierung von bei physiologischem pH-Wert vorliegenden formalen Ladungen zu neutral geladenen Molekülen.^[69,70] Dies kann jedoch den Nachteil mit sich führen, dass eine erhöhte Lipophilie konträr zur Wasserlöslichkeit der Substanz oder der chemischen Stabilität des *Prodrugs* beiträgt.^[70]

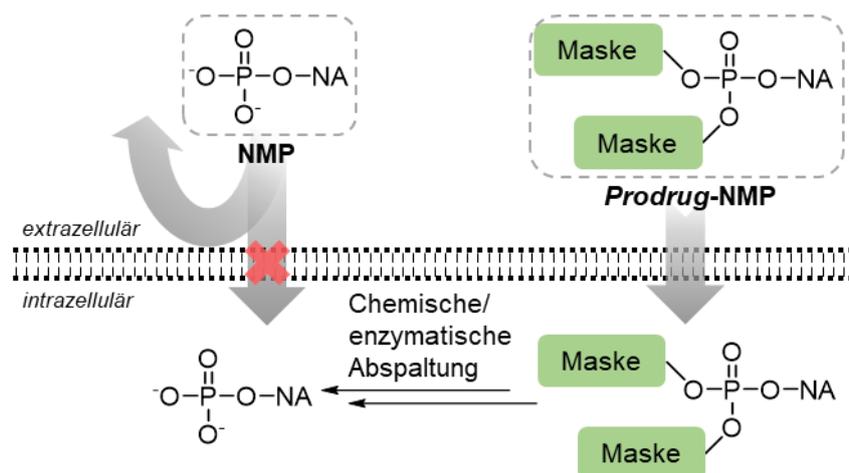


Abb. 4.4: Schematische Darstellung des *Prodrug*-Konzepts. Das Monophosphat eines Nucleosids oder -Analogons (NA) weist aufgrund der hohen Polarität keine Membranpermeabilität auf. Diese wird erreicht, indem die Ladungen des Phosphats maskiert und damit die Lipophilie des Moleküls so weit erhöht wird, dass dieses passiv durch die Zellmembran diffundieren kann. In der Zelle wird das *Prodrug* in das Nucleosidmonophosphat (NMP) überführt.^[71]

Im Kontext der Nucleotide, speziell der Nucleosidmonophosphate (NMP) stellt das *ProTide*-Konzept wohl eines der bekanntesten Ansätze eines *Prodrugs* dar, welches 2009 von MCGUIGAN *et al.* entwickelt wurde und bereits in mehreren von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) zugelassenen Medikamenten Anwendung findet.^[72,73] Dazu gehören beispielsweise das bei Hepatitis C-Infektionen angewandte Medikament Sofosbuvir^[73,74] sowie das von Gilead Sciences ursprünglich gegen Ebola-Infektionen entwickelte Remdesivir,^[75] welches im Rahmen der SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2*) Pandemie in einer Notfallzulassung der FDA zur Behandlung von Covid-19 Erkrankungen zugelassen wurde.^[76] Bei *ProTide*-Verbindungen handelt es sich um Phosphoramidate, bei denen die Phosphoramidatgruppe des NMPs mit einem Aryl- und einem veresterten Derivat einer Aminosäure, in der Regel L-Alanin, derivatisiert sind.^[72,73] Durch Einführen von Donor- bzw. Akzeptorsubstituenten am Aromaten, der Nutzung verschiedener Aminosäuren sowie der Variation des Alkylrestes des Aminosäureesters bietet das *ProTide*-Konzept entsprechend Raum für die Optimierung der pharmakologischen Eigenschaften des *Prodrugs*.^[71-73] Die Freisetzung des Nucleosidmonophosphats aus dem entsprechenden *ProTide*-Derivat ist in **Abb. 4.5** dargestellt. Diese wird nach erfolgreicher Aufnahme in die Zelle durch die Spaltung des Aminosäureesters durch zelluläre Esterasen, hauptsächlich Cathepsin A, initiiert.^[72] Im folgenden Schritt wird ein fünfgliedriges cyclisches Intermediat durch eine spontane Cyclisierung des neu gebildeten Carboxylats mit dem Phosphoramidat gebildet, bei der der Arylsubstituent eliminiert wird. Das gemischte Phosphoranhydrid wird anschließend durch chemische Hydrolyse gespalten, wobei das zuvor gebildete Ringsystem wieder geöffnet wird. Abschließend katalysieren Phosphoramidasen (z.B. *histidine triad nucleotide-binding protein 1*, HINT1) die Abspaltung der Aminosäure von der Phosphatgruppe und das freie NMP wird erhalten.^[72,77]

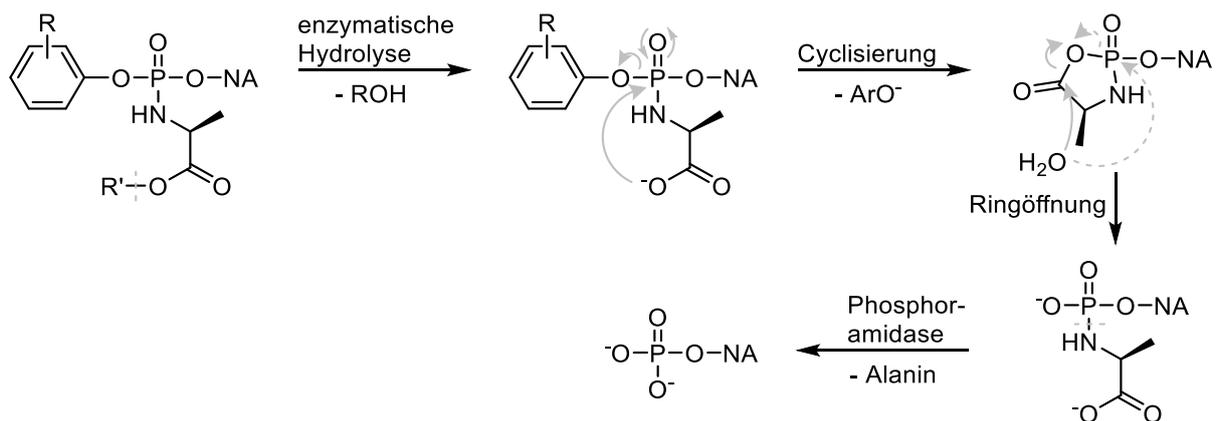


Abb. 4.5: Darstellung der Abspaltung der maskierenden Einheiten eines mit *ProTide*-Konzept derivatisierten Nucleosid-Analogons (NA) zur Freisetzung des entsprechenden NMP.^[72,73]

Ein von enzymatischer Aktivität unabhängiges *Prodrug*-Konzept stellt der *cycloSal*-Ansatz dar, welcher von MEIER *et al.* entwickelt wurde.^[78–80] Namensgebend für diesen Ansatz ist die cyclische Saligenylgruppe, die die Ladungen des NMPs maskiert. Der asymmetrische cyclische Phosphatdiester weist aufgrund der phenolischen und benzylicischen Substituenten unterschiedliche chemische Hydrolysestabilitäten auf. Auf diesem Unterschied basiert der Freisetzungsmechanismus des *cycloSal*-Konzepts, welcher mit entsprechenden Substituenten am aromatischen System der Saligenylgruppe variiert werden kann.^[78,81] Die chemische Hydrolyse zur Abspaltung der Maskierung ist abhängig vom pH-Wert und resultiert bevorzugt in der Spaltung der phenolischen Phosphoresterbindung (siehe **Abb. 4.6**). Es besteht außerdem die Wahrscheinlichkeit der initialen Abspaltung der benzylicischen Gruppe, jedoch wäre eine komplette Abspaltung der Maske durch chemische Hydrolyse bei physiologischem pH-Wert als Folge dessen nicht mehr möglich.^[78,81]

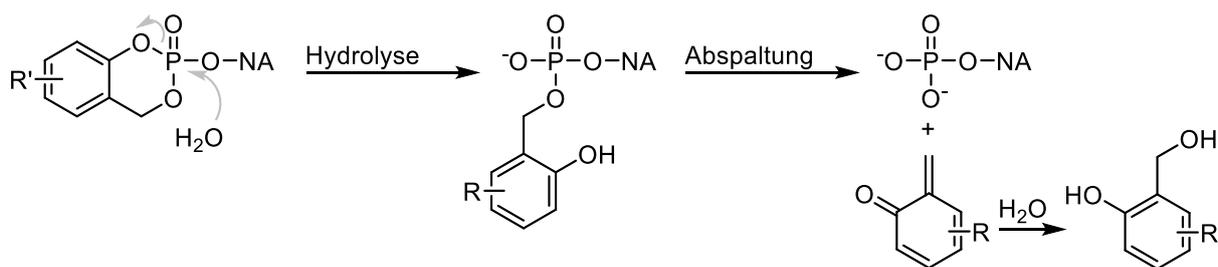


Abb. 4.6: Darstellung des Abspaltmechanismus der *cycloSal*-Maskierung durch chemische Hydrolyse. Zur vereinfachten Darstellung wird auf die alternative initiale Abspaltung der benzylicischen Position verzichtet.^[78,81]

Nach der erfolgreichen Spaltung der phenylischen Esterbindung kann eine spontane Spaltung der benzylicischen Esterbindung als Folge des stärkeren Donor-Effekts der phenolischen Gruppe stattfinden. Dabei wird das freie NMP sowie 2-Chinonmethid erhalten, welches anschließend zum entsprechenden Saligenylalkohol hydrolysiert wird.^[78] Erwähnenswert sind *cycloSal*-Verbindungen der zweiten Generation, welche durch Anfügen eines entsprechenden Substituenten mit bioreversibler Gruppe einen „lock-in“-Effekt besitzen, da die bioreversible

Estergruppe nach erfolgreicher Aufnahme in die Zelle zu einer polaren Gruppe gespalten wird, welche eine geringere Membranpermeabilität als der Vorgänger aufweist und somit das maskierte NMP in der Zelle akkumuliert und chemisch hydrolysiert wird. Diese Modifizierung geht jedoch mit einer erhöhten chemischen Stabilität der *cycloSal*-Maskierung nach der enzymatischen Esterspaltung einher, die wegen der neu entstehenden Carboxylat-Ladung vermutet wird.^[78,79]

THOMSON *et al.* konnten nach anfänglicher Erprobung eines neuen bioreversiblen Maskierungskonzepts an Methylphosphonat dieses auf das 5'-Monophosphat von Azidothymidin übertragen und dadurch ein neues *Prodrug*-Konzept für nucleosidische Monophosphate etablieren.^[82,83] Dieses setzt auf die Verwendung von zwei Acyloxybenzyl (AB) Gruppen zur Maskierung der negativen Ladungen des Monophosphats, welche namensgebend für das folgend vorgestellte Bis(Acyloxybenzyl)-Konzept (BAB-Konzept) sind (siehe **Abb. 4.7**).^[82,84]

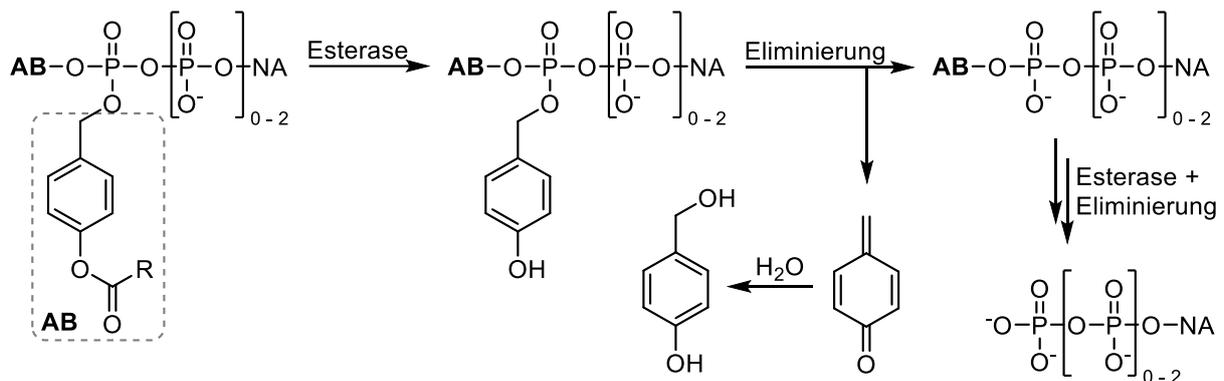


Abb. 4.7: Darstellung des Abspaltmechanismus des BAB-Konzepts für Monophosphate, DiPPro-Konzepts für Nucleosiddiphosphate und TriPPro-Konzepts für Nucleosidtriphosphate.^[82,85,86]

Die AB-Gruppen bestehen aus einem aromatischen Spacer und einer lipophilen Acylgruppe und sind über Phosphoresterbindungen an das jeweilige Monophosphat gebunden und können so die Membranpermeabilität des maskierten NMPs erhöhen. Die Abspaltung der AB-Masken wurde experimentell untersucht, indem durch Zusatz von Schweineleberesterase (*pig liver esterase*, PLE) die Abspaltung initiiert wurde und somit die phenolische Esterbindung hydrolysiert und das entsprechende Phenol gebildet wurde.^[82] Die vorhandene Estergruppe wurde somit von einem Akzeptorsubstituent zu einem Donorsubstituent, woraufhin diese Umpolung in einer spontanen Abspaltung in Form einer 1,6-Eliminierung der Gruppe resultieren kann. Dies führt zur Freisetzung des monomaskierten NMP-Derivats als Zwischenprodukt sowie Chinonmethid, welches anschließend zum 4-Hydroxybenzylalkohol hydrolysiert werden kann.^[82,87,88] Die abschließende Freisetzung des freien NMPs erfolgt analog zur Abspaltung der ersten AB-Maske durch initiale enzymatische Esterspaltung mit folgender spontaner Eliminierung. Bei der Abspaltung der zweiten Maske konnte jedoch der Vorteil der verwendeten Spacereinheit im Vergleich zu direkt acylierten Phosphaten

demonstriert werden. Die enzymatische Abspaltung einer AB-Maske vom monomaskierten Zwischenprodukt verläuft wesentlich schneller als bei dem acylierten Phosphat, da Esterasen nur wenig Toleranz gegenüber negativen Ladungen in der Nähe des aktiven Zentrums aufweisen.^[82,83,87] Durch die Arbeiten von JESSEN, WEINSCHENK, GOLLNEST, SCHULZ, ZHAO und JIA war eine Übertragung des BAB-Prinzips auf Nucleosiddiphosphate sowie auf Nucleosidtriphosphate möglich, dessen Konzepte als DiPPro- bzw. TriPPPro-Konzept etabliert wurden (siehe **Abb. 4.7**).^[85,87–92] In diesen Konzepten wird die Variabilität der Alkylkette des Esters ausgenutzt, welche je nach Länge zur Stabilität gegenüber chemischer und enzymatischer Hydrolyse und nötiger Lipophilie des zu maskierenden Di- bzw. Triphosphats beitragen und entsprechend einfach durch Änderung der Kettenlänge angepasst werden können.^[89] Während das BAB-Konzept nur enzymatisch untersucht wurde, konnte durch die Arbeiten von PERTENBREITER, REIMER, WITT und ROSSMEIER eine erfolgreiche Aufnahme von Nucleotiden in CEM-Zellen bestätigt werden. Dies erfolgte durch die Anwendung des DiPPro- und TriPPPro-Konzepts an fluoreszierenden Nucleosiden, dessen Metaboliten nach anschließenden Zellaufnahmestudien in den Zellen mittels Fluoreszenz nachgewiesen werden konnten.^[93–96]

Im Kontext der Dinucleotide sind bereits einige bioreversibel maskierte Verbindungen synthetisiert und untersucht worden. Erwähnenswert sind hierfür die von CHURCHILL *et al.* synthetisierten *Prodrug*-Verbindungen von cADPR **5**. Bei den beiden synthetisierten Verbindungen handelt es sich um zweifach am Pyrophosphat maskierte Derivate ohne negative Ladung: Acetyloxymethyl (AM) cADPR **8** und Butanoyloxymethyl (BM) cADPR **9** (siehe **Abb. 4.8**).^[97] Beide Derivate wurden durch Reaktion des freien cADPR **5** mit Acetyloxymethylbromid bzw. Butanoyloxymethylbromid in Acetonitril über einen Zeitraum von 48 Stunden hergestellt. Da von den beiden Zielverbindungen nur geringe Mengen erhalten und die Verbindungen zusätzlich als instabil beschrieben wurden, konnte die erfolgreiche Synthese nur indirekt nachgewiesen werden. Hierfür wurden die Derivate mit Natronlauge versetzt und das entstandene Hydrolyseprodukt als cADPR **5** identifiziert.^[97] In Zelltests wurden neuronale Zellen extrazellulär jeweils mit beiden Derivaten inkubiert und ein Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ gemessen, welcher nicht durch extrazelluläre Applikation von cADPR **5** beobachtet wurde. Es wurde daraus geschlossen, dass sowohl AM-cADPR **8** sowie BM-cADPR **9** in der Lage sind, die Zellmembran zu permeieren und in der Zelle zu cADPR **5** umgewandelt werden.^[97] Beide Substanzen zeigten ähnliche Aktivität in den erwähnten Zelltests, aber die Anwendung des BM-cADPR **9** wird nicht empfohlen, da das Butanoyloxymethylbromid im Gegensatz zum Acetyloxymethylbromid zur Synthese des BM-cADPR **9** jedoch nicht kommerziell erhältlich war und deshalb aufwendig hergestellt werden musste.^[97] CHURCHILL *et al.* Beschreiben die erfolgreiche Herstellung eines bioreversibel maskierten AM-NAADPs **10** (siehe **Abb. 4.8**).^[98]

Die Synthese erfolgte hierbei analog zu der Synthese des AM-cADPR **8** ausgehend von freiem NAADP **6**, jedoch fällt in diesem Fall die Charakterisierung der Verbindung wieder mit Begründung anhand der Labilität der Verbindung nur unvollständig aus.^[98]

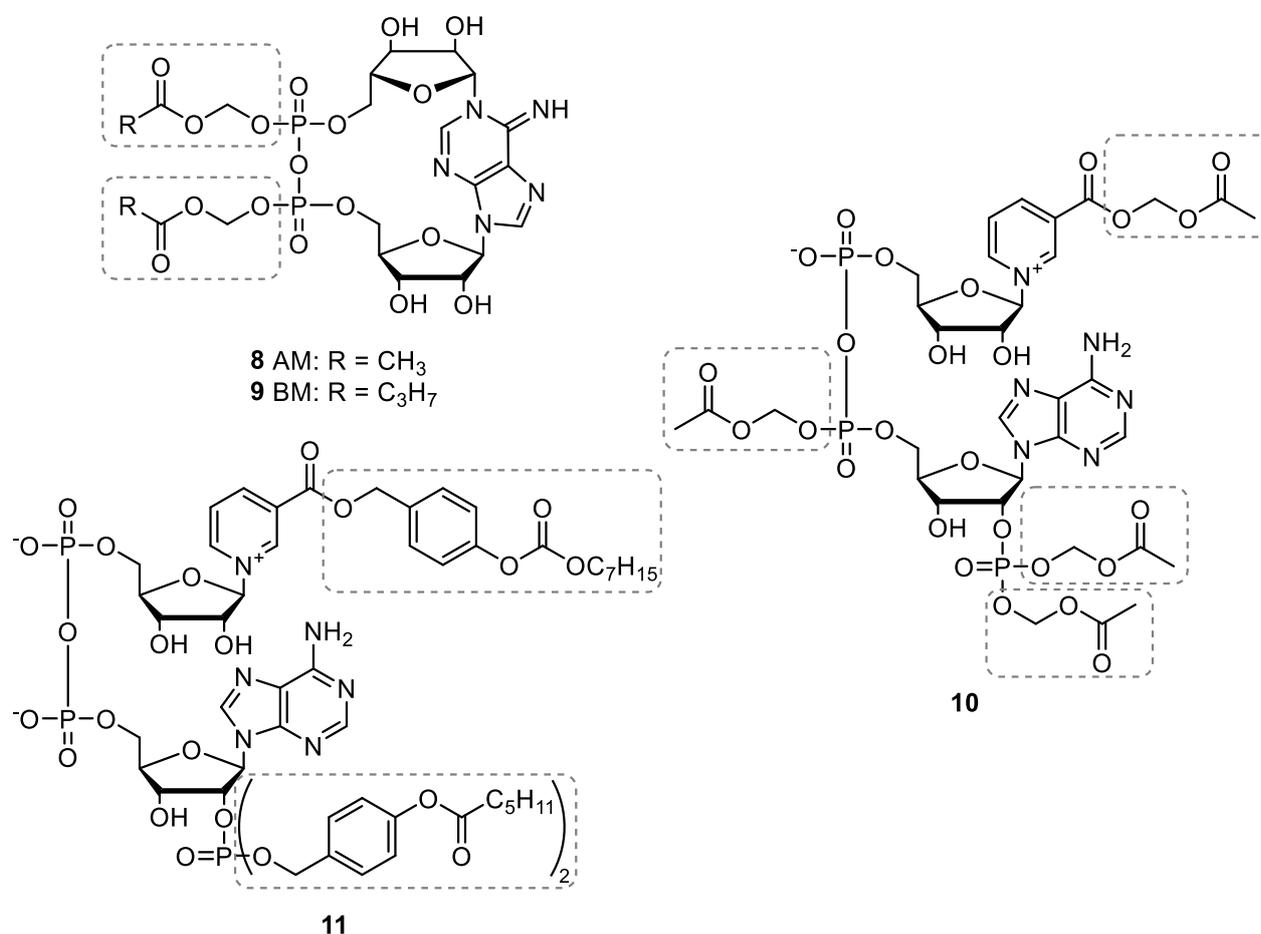


Abb. 4.8: Strukturformeln literaturbekannter bioreversibel maskierter Derivate von cADPR **5** (Acetyloxymethyl-cADPR **8** und Butanoyloxymethyl-cADPR **9**) sowie NAADP **6** (Acetyloxymethyl-NAADP **10** und AB-maskiertes NAADP **11**).

Unter diesen Bedingungen können aufkommende Zweifel nicht abgewendet werden, wie sie RUTHENBECK nach ihrem Versuch, das Molekül synthetisch zu reproduzieren, äußert.^[99] Kritik basiert auf der sehr geringen Löslichkeit des NAADPs **6** im beschriebenen Lösungsmittel, der Labilität des Edukts bei den beschriebenen Reaktionsbedingungen sowie des massenspektrometrisch bestimmten Umsatzes, welcher nahezu nicht beobachtet wurde.^[99] Anhand dieser Ergebnisse verfolgte RUTHENBECK die Synthese eines AB-maskierten NAADP-Derivats, welches jedoch erst DEKIERT und KRUKENBERG totalsynthetisch mit dem dreifach maskierten NAADP-Derivat **11** gelungen ist (siehe **Abb. 4.8**).^[99–101] Das gewählte Zielmolekül **11** ging jedoch mit einigen synthetischen Herausforderungen einher. So bewirkt eine Maskierung der negativen Ladung der Nicotinsäure eine erhöhte Labilität der N-glycosidischen Bindung gegenüber hydrolytischen Bedingungen sowie erhöht die zweifache Maskierung des 2'-Monophosphats zusätzlich die Wahrscheinlichkeit zur Migration zur 3'-Position.^[100] Aufgrund dessen wurde von DEKIERT ein weiteres maskiertes NAADP-Derivat synthetisiert, welches die

Labilitäten durch Austausch der N-glycosidischen Bindung zum C-Nucleosid sowie durch Austausch der 3'-Hydroxygruppe mit einem Fluoratom ausgleicht. Auf der Basis erster Untersuchungen an Jurkatzellen konnte bereits ein positiver Effekt der angefügten Maskierungen auf die Membranpermeabilität des synthetisierten maskierten NAADP-Derivats **11** sowie der stabilisierten Verbindung bestätigt werden.^[100]

POTTER *et al.* veröffentlichten einen zu den vorgestellten *Prodrug*-Konzepten ähnlichen Ansatz, der im Gegensatz zum Anfügen von Gruppen zur Maskierung einer negative Ladung diese durch Austausch des Pyrophosphat-Rückgrats mit der bioisosteren Phosphonoacetat-Gruppe mit nur einer formellen negativen Ladung verfolgt.^[102] Hierbei war es ihnen möglich, die Phosphonoacetat-ADPR Derivate **12** und **13** zu synthetisieren, welche sich lediglich durch vertauschte Verknüpfung der Ribose und Adenosin über das Phosphonoacetat unterscheiden (siehe **Abb. 4.9**). In ersten Untersuchungen der Verbindungen konnte eine wesentlich höhere Stabilität des Derivats **13** gegenüber Verbindung **12** in Triethylammoniumbicarbonat (TEAB) Puffer beobachtet werden, welche von POTTER *et al.* wegen der sterisch beanspruchten und damit schwieriger von Nucleophilen erreichbaren 5'-Estergruppe des Derivats **13** vermutet wird.^[102] Die Bestimmung der biologischen Aktivität der Derivate **12** und **13** an TRPM2 zeigten jedoch weder agonistische, noch antagonistische Eigenschaften beider Derivate auf, weshalb POTTER *et al.* daraus schlossen, dass zur Aktivierung des Kanals ein vollständiges Pyrophosphat-Rückgrat vonnöten ist.^[102]

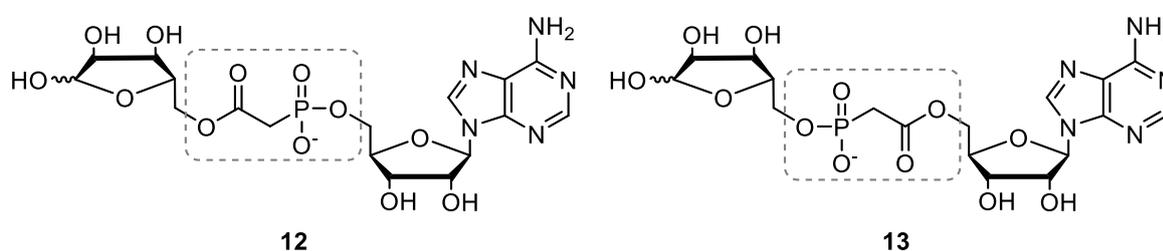


Abb. 4.9: Strukturformeln der von POTTER *et al.* synthetisierten Phosphonoacetat-Derivate **12** und **13**.

Mit einem peracetylierten Pentanoyloxybenzyl-maskierten (PB) ADPR-Derivat **14** (PB-ADPR^{Ac}) wurde 2017 von PAHNKE das erste bioreversibel maskierte ADPR-*Prodrug* synthetisiert (siehe **Abb. 4.10**).^[103] Da das anomere Zentrum der terminalen Ribose acetyliert vorlag, konnten jeweils das α - bzw. β -Derivat von PB-ADPR^{Ac} **14** synthetisiert werden, indem bereits nach der Acetylierung des Ribosebausteins die Anomere getrennt und einzeln zum jeweiligen Zielmolekül umgesetzt wurden.^[103] Unter der Annahme, dass die beiden Anomere keine signifikanten Unterschiede bezüglich der chemischen oder enzymatischen Stabilität aufweisen, wurde nur das β -PB-ADPR^{Ac} **14** in besagten Studien untersucht.^[103] Die Bestimmung der chemisch-hydrolytischen Stabilität erfolgte durch Inkubation bei Raumtemperatur in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (*phosphate buffered saline*, PBS) bei pH = 7.3 und wurde mittels Kernspinresonanzspektroskopie (*nuclear magnetic resonance*,

NMR) verfolgt. Es wurde auf eine hohe Stabilität des Edukts geschlossen, da nach sieben Tagen der Inkubation noch 20% des β -PB-ADPR^{Ac}s **14** in den ³¹P-NMR-Spektren beobachtet wurden.^[103]

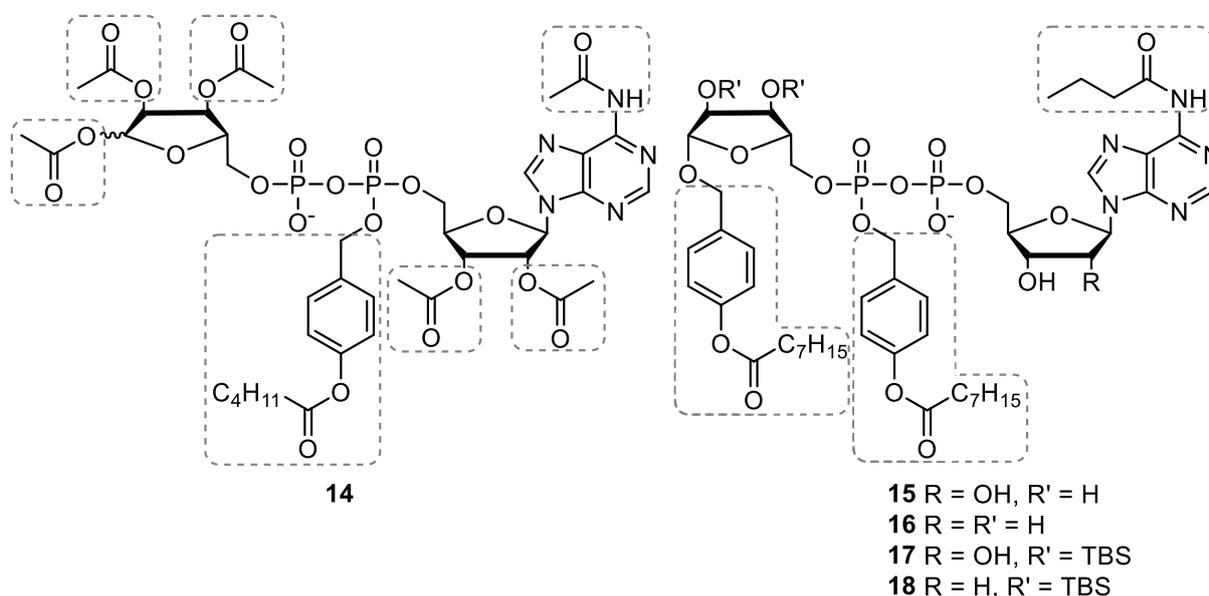


Abb. 4.10: Strukturformeln der von PAHNKE synthetisierten peracetylierten PB-ADPR **14** Zielstruktur und der von RUTHENBECK angestrebten *Prodrugs*: das zweifach Octanoyloxybenzyl-maskierte (OB) ADPR-Derivat **15** mit butanoylierter exocyclischer Aminofunktion sowie dessen 2'-desoxygeniertes Derivat **16** und deren silylierten Vorläuferverbindungen **17** und **18**.^[99,103]

Die enzymatische Hydrolyse erfolgte durch Zugabe von PLE sowie Inkubation der Reaktionslösung bei 37 °C und wurde qualitativ mittels chromatographischer Trennung mit anschließender Elektrospray-Ionisation (ESI) Massenspektrometrie (MS) verfolgt. Da das Edukt sowie die zwei Hydrolyseprodukte mit den abgespaltenen PB-Masken und einer bzw. zwei abgespaltenen Acetylgruppen die gleiche Retentionszeit aufwiesen, wurde keine direkte Aussage über die Abspaltungsgeschwindigkeit der PB-Maske getroffen. Nachdem die Reaktionslösung insgesamt sieben Tage inkubiert wurde, wurde ein fast kompletter Abbau des β -PB-ADPR^{Ac}s **14** beschrieben sowie freies ADPR **1** beobachtet. Es erfolgte keine Bestimmung des Verhältnisses vom freien ADPR **1** zu den restlichen Zwischenprodukten.^[103] Da die enzymatische Hydrolyse über mehrere Tage erfolgen musste, wurde diese mit der dreifachen Enzymkonzentration wiederholt, jedoch wurde kein Unterschied in der Freisetzungsgeschwindigkeit des ADPRs **1** ermittelt. Dies lässt die Vermutung aufkommen, dass das verwendete Enzym nicht über die gesamte Dauer des Experiments stabil ist und aufgrund dessen, nach Aktivitätsverlust des Enzyms, nur noch die chemische Hydrolyse beobachtet wird.^[103] PAHNKE schloss daraus, dass möglichst labilere oder keine Ester statt der Acetylgruppen verwendet werden sollten.^[103] RUTHENBECK hat diese Erkenntnisse aufgegriffen und daraus als Zielstrukturen die zweifach Octanoyloxybenzyl (OB) maskierten Derivate **15** und **16** vorgeschlagen, welche zusätzlich zu den AB-Gruppen noch eine Butanoyl-Funktion an der exocyclischen Aminofunktion aufweisen.^[99] Die OB-Gruppe am β -Phosphat maskiert die

Ladung und die zweite OB-Gruppe soll für zusätzliche Lipophilie sorgen. Die zusätzliche Verwendung der Butanoylamid-Gruppe dient ebenfalls zur Steigerung der Lipophilie.^[99] Trotz einiger Hürden bei der Totalsynthese der Verbindungen **15** und **16** gelang es ihr, die entsprechenden an 2'- und 3'-Positionen *tert*-Butyldimethylsilyl (TBS) geschützten Vorläuferverbindungen **17** und **18** herzustellen, eine abschließende Abspaltung dieser Schutzgruppen zu den Zielmolekülen war jedoch nur bedingt möglich.^[99] RUTHENBECK versuchte das ADPR-Derivat **15** durch die Reaktion des geschützten Vorläufers **17** mit Triethylamin-gepuffertem Desilylierungsreagenz Triethylamin-Trihydrofluorid (TREAT-HF) zu synthetisieren, konnte jedoch statt einer Abspaltung der TBS-Gruppen nur die Spaltung der OB-Gruppe des Moleküls **17** beobachten.^[99] Für die Entschützung des 2'-desoxygenierten Derivats **18** wurde ungepuffertes TREAT-HF verwendet, welches in signifikanten Mengen zur Spaltung des Pyrophosphats führte, aber auch das gewünschte Zielprodukt beobachtet werden konnte. Dieses konnte jedoch nicht abschließend von Verunreinigungen befreit werden, doch die gemessenen ³¹P-NMR- und MS-Spektren lieferten erste Indizien einer erfolgreichen Abspaltung zum Derivat **16**.^[99] Im Gegensatz zu PAHNKE wurden keine weiterführenden Experimente zur Bestimmung der Stabilität gegenüber chemischer oder enzymatischer Hydrolyse durchgeführt.^[99] Die Ergebnisse von RUTHENBECK legen vielversprechende Ansätze zur Synthese eines ADPR-*Prodrugs* dar, doch aus den Ergebnissen von PAHNKE lässt sich zudem schließen, dass die Freisetzung von freiem ADPR aus den vorgestellten *Prodrugs* eher langsam erfolgte.^[99,103] Aus diesem Grund stellt die Möglichkeit zur schnellen Demaskierung einen vielversprechenden Ansatz zur schnellen Freisetzung von ADPR **1** dar, den es zu verfolgen gilt.

4.6 Photolabile Maskierungen

Im Kontext der biologischen Anwendung werden photolabile Schutzgruppen (*photolabile protective groups*, PPG) oft verwendet, welche entsprechend der Namensgebung durch Bestrahlung von Licht abgespalten werden und so das geschützte Substrat freigeben. Aufgrund dessen ist dieses Schutzgruppenkonzept im Vergleich zum *Prodrug*-Konzept unabhängig von jeglicher enzymatischer Reaktion.^[104,105] Die Abspaltung erfolgt hierbei bioorthogonal durch Bestrahlung mit einer definierten Wellenlänge und verläuft in der Regel innerhalb wesentlich kürzerer Zeiträume als bei der Demaskierung von *Prodrugs*, was eine zeitliche Steuerung der Freisetzung des Substrats durch PPGs ermöglicht.^[104] Je nach der verwendeten Optik bzw. Fokussierung des Lichts kann zudem eine räumlich kontrollierte Freisetzung erfolgen, was bei einer Applikation in Zellen für orts aufgelöste Untersuchungen an einzelnen Zellkompartimenten helfen kann.^[104–106] Für eine Anwendung im biologischen System gilt es bei der Wahl der passenden PPG verschiedene Kriterien zu erfüllen, wobei bis dato keine Photogruppe bekannt ist, die alle Kriterien im ausreichenden Maße erfüllt.^[104] Das

erste Kriterium ist eine Photolyse-induzierende Absorption von Licht einer Wellenlänge > 300 nm durch die gewählte Photogruppe, damit mögliche Schäden am Zellsystem durch ultraviolette (UV) Strahlung minimiert wird. Zudem sollte die Absorption möglichst effizient erfolgen, weshalb ein hoher Extinktionskoeffizient der Photogruppe vorteilhaft ist. Ebenso sollte die PPG nach erfolgreicher Absorption mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Photolysereaktion eingehen, was durch die Quantenausbeute einer Photogruppe definiert ist, die sich aus dem Verhältnis von Photolyse-induzierenden Photonen zu eingestrahlteten Photonen ergibt.^[104] Weitere Kriterien setzen ein möglichst inertes Verhalten der Photogruppe bzw. des Abspaltprodukts sowie eine gute Löslichkeit im gewählten Medium vor und nach der Abspaltung voraus.^[104] Zudem sollte das Abspaltprodukt das eingestrahelte Licht nicht absorbieren, was einen negativen Einfluss auf die Effizienz bzw. die Quantenausbeute der Photolyse haben kann.^[104]

Es sind eine Vielzahl an verschiedenen Schutzgruppen mit photolabilen Eigenschaften bekannt, die bekannteste und im biologischen Kontext wohl am häufigsten verwendete Art von PPG gehören zur Kategorie der *ortho*-Nitrobenzyl Schutzgruppen.^[104] Die einfachste Verbindung dieser Kategorie ist die namensgebende *ortho*-Nitrobenzyl (oNB) Gruppe **19** und die Nitrophenylethyl (NPE) Gruppe **20**, welche sich nur durch eine Methylgruppe an der benzyllischen Position von der oNB-Gruppe unterscheidet. Ebenso häufig verwendet werden die Nitroveratryl (NV) und die Methyl-Nitroveratryl (MeNV)-Schutzgruppe, welche sich nur durch zwei Methoxygruppen in 4- und 5- Position von den zuvor erwähnten PPGs **19** und **20** unterscheiden (siehe **Abb. 4.11**).^[104]

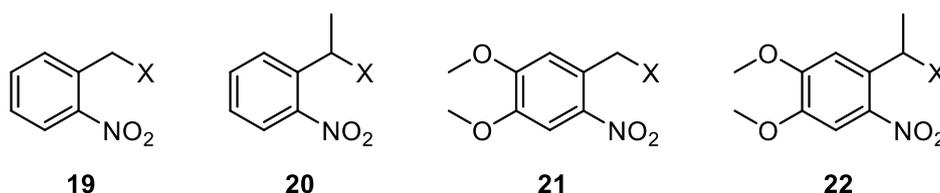


Abb. 4.11: Strukturen der am häufigsten verwendeten photolabilen Schutzgruppen an einem Substrat X. Dargestellt sind die *ortho*-Nitrobenzyl-Gruppe **19** (oNB), die Nitrophenylethyl-Gruppe **20**, die Nitroveratryl-Gruppe **21** (NV) und die Methyl-Nitroveratryl-Gruppe **22** (MeNV).^[104]

Der Mechanismus zur photoinduzierten Abspaltung verläuft nach einem NORRISH TYP 2 Mechanismus und ist beispielhaft anhand der oNB-Gruppe eines photolabil geschützten Substrats X in **Abb. 4.12** dargestellt.^[107] Diese wird nach Absorption eines Photons der entsprechenden Spaltungswellenlänge zur Bildung eines angeregten Singulett-Zustands der Nitrogruppe ausgelöst, was in einer homolytischen Spaltung zum Diradikal **23** resultieren kann.^[104,107] Ein anschließendes *Intersystem crossing* (ISC) ändert den angeregten Singulett-Zustand in den entsprechenden Triplett-Zustand der Verbindung **23**, welcher durch Protonenshift zum Benzylradikal **24** isomerisiert. Durch mesomere Stabilisierung des radikalischen Zustands wird das (*Z*)-aci Derivat **25** gebildet, welches durch Deprotonierung

zum *aci*-Anion **26** und anschließender Protonierung zum (*E*)-*aci*-Molekül **27** tautomerisieren.^[104,107,108] Dieses reagiert durch anschließenden Ringschluss zum Benzisoxalidin-Derivat **28**, welches abschließend durch Ringöffnung unter Eliminierung des freien Substrats X das 2-Nitrosobenzaldehyd **29** bildet.^[104]

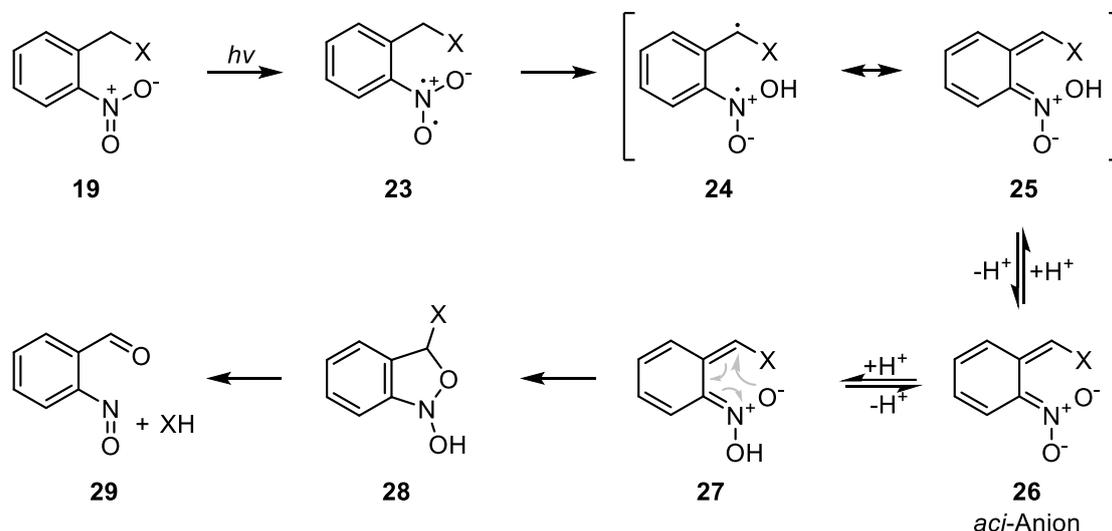


Abb. 4.12: Photoinduzierter Abspaltmechanismus der *ortho*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen zur Freisetzung einer Abgangsgruppe X (z.B. Phosphate, Carbonate oder Carboxylate).^[104,107,109]

Aus der Betrachtung des Mechanismus wird ein Nachteil der Verwendung dieser Art von PPG deutlich, da abschließend immer Nitrosobenzaldehyde der *o*NB **19** und NV **21** Gruppen gebildet werden, welche durch die Aldehyd-Funktion in biologischen Systemen zu potentiell toxischen Nebenreaktionen führen können.^[108] Die entsprechenden Nitrosoketone der NPE **20** und MeNV **22** Gruppen besitzen eine verminderte Wahrscheinlichkeit für Nebenreaktionen.^[104] Zusätzlich zur Entstehung weniger toxischer Nebenprodukte weisen die sekundären PPGs **20** und **22** im Vergleich zu den sekundären Derivaten **19** und **21** eine wesentlich höhere Quantenausbeute und damit verbunden schnellere Freisetzungsgeschwindigkeiten auf, bringen jedoch den Nachteil eines neuen Stereozentrums in benzylicher Position mit sich, welches abhängig vom zu schützenden Substrat zur Entstehung von Diastereomeren führt.^[104] Außerdem besitzen die Methoxy-Gruppen der Derivate **21** und **22** einen Einfluss auf die Photolysebedingungen, da diese durch den Donor-Effekt eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums und damit potentiell geeignetere Photolysewellenlängen für Zellapplikationen bewirken.^[104,108] Dies wird aus den UV-Absorptionsspektren der Benzylalkohole der Verbindungen **19**, **20** und **21** deutlich: die Absorptionsmaxima des 2-Nitrobenzylalkohols und 2-Nitrophenylethanol liegen jeweils bei ca. 260 nm,^[110,111] das des 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylalkohols bei ca. 350 nm.^[111] Der Extinktionskoeffizient ist bei 350 nm auch um fast das 15-fache höher bei dem 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylalkohol als beim 2-Nitrophenylethanol und bietet damit geeignetere Photolysebedingungen bei biologischen Anwendungen.^[111]

Photolabil geschützte Derivate werden auch als *photocaged* bzw. *caged* bezeichnet, wobei das geschützte Derivat nicht der Bezeichnung entsprechend in einem Molekülgerüst eingeschlossen, sondern bis zur Freisetzung durch Bestrahlung in geschützter Form „gefangen“ ist.^[104,112,113] Obwohl bereits 1974 PATCHORNIK *et al.* über die vielversprechenden Anwendungsmöglichkeiten berichteten,^[114] ist diese Namensgebung jedoch auf die im Jahr 1978 veröffentlichten Pionierarbeiten zum *caging* von Nucleotiden von KAPLAN *et al.* zurückzuführen, die durch die Synthese der ersten *caged* ATP Verbindungen **30** mit oNB bzw. NPE Schutzgruppe geprägt wurden (siehe **Abb. 4.13**).^[115,116]

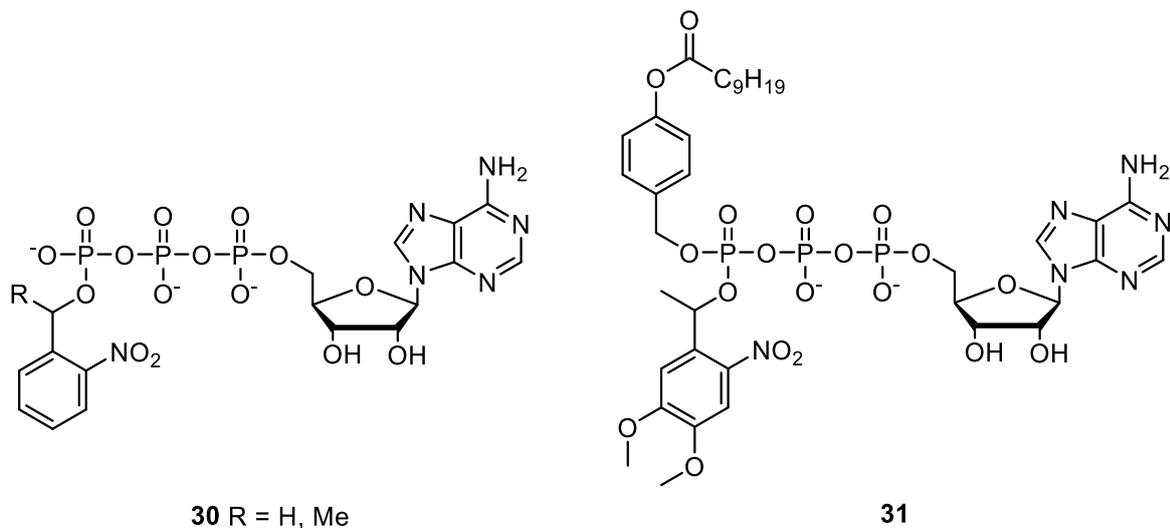


Abb. 4.13: Strukturformeln der von KAPLAN *et al.* synthetisierten *caged* ATP-Derivate **30** sowie das von JESCHIK synthetisierte bioreversibel maskierte MeNV-*caged* ATP.^[115–117]

Da die Moleküle **30** trotz der Maskierung einer Ladung noch eine hohe Polarität aufweisen und damit nicht passiv appliziert werden können, hat JESCHIK darauf basierend ein bioreversibel maskiertes *caged* ATP **31** hergestellt, welches eine für Zellapplikationen aus zuvor genannten Gründen vorteilhaftere MeNV- statt oNB- oder NPE-Photogruppe trägt und damit eine schnellere Freisetzung des ATPs ermöglichte. Zusätzlich dazu ist am γ -Phosphat eine bioreversible Decanoyloxybenzyl (DB) Maske angefügt, die neben der Maskierung einer Ladung mit einer längeren Alkylkette für eine erhöhte Lipophilie sorgt und mit potentiell erhöhten membranpermeablen Eigenschaften einhergeht.^[117] Die Idee hinter dieser Struktur besteht aus einer initialen Inkubation von Zellen mit der Verbindung **31**, welche die passive Aufnahme in die Zelle ermöglichen sollte. Anschließend folgt die für die AB-Masken übliche enzymatische Abspaltung der DB-Maske und gibt das entsprechende MeNV-*caged* ATP frei, welches idealerweise keine biologische Aktivität auslöst und somit in den Zellen akkumuliert wird. Nach vollständiger Abspaltung soll eine Photolyse das ATP mit räumlicher und zeitlicher Kontrolle freisetzen.^[108,117] Dieses duale Maskierungskonzept verspricht viele Vorteile gegenüber den einzelnen Konzepten. Es erfolgte jedoch bisher keine Bestätigung des

Konzepts durch Zelltests, weshalb es noch zu klären gilt, wie groß der Mehrwert durch Anwendung der Verbindung **31** ist.^[108,117]

Eine Anwendung von PPGs auf dinucleotidische Verbindungen, wie cADPR **5** und NAADP **6**, erfolgte bereits in Arbeiten von AARHUS *et al.* (siehe **Abb. 4.14**), welche durch unspezifische Reaktion von den freien Nucleotiden mit 2-Nitrophenyldiazoethan unter Abspaltung von molekularem Stickstoff synthetisiert wurden.^[118,119]

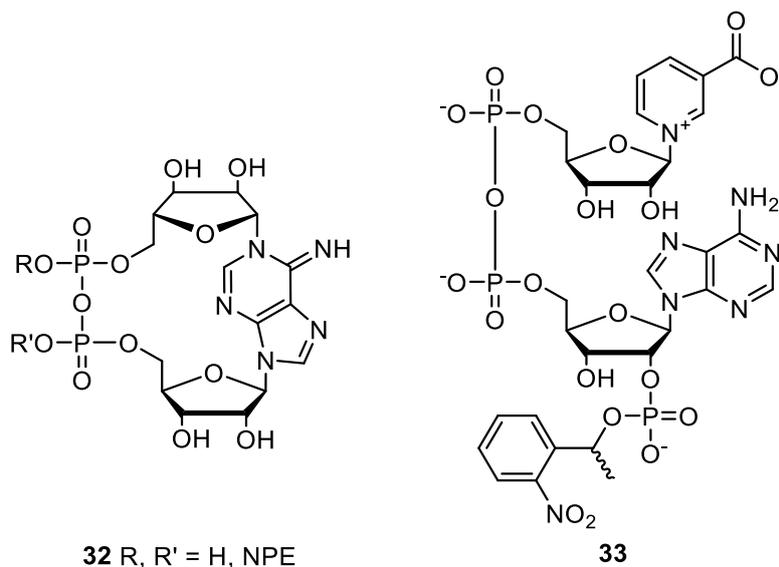


Abb. 4.14: Links ist die Strukturformel des von AARHUS *et al.* synthetisierten *caged* cADPRs **32** dargestellt, welches die NPE-Gruppe an einer der beiden Phosphate des Pyrophosphat-Rückgrats trägt.^[118] Rechts ist die Strukturformel des ebenfalls von AARHUS *et al.* synthetisierten *caged* NAADP **33** abgebildet.^[119]

Bei diesen Reaktionen konnte das *caged* cADPR **32** erhalten werden, bei dem nur eine Phosphatgruppe mit einer PPG geschützt ist, aber durch die unspezifische Reaktion mit dem 2-Nitrophenyldiazoethan ein Gemisch der beiden möglichen Regioisomere erhalten wurde. Die Angabe eines Verhältnisses, in dem die beiden Regioisomere gebildet wurden, erfolgte nicht.^[118] Die Freisetzung von freiem cADPR **5** nach Bestrahlung bei 350 nm des *caged* cADPRs **32** konnte im Homogenat von Seeigelleiern (*Strongylocentrotus purpuratus*) erfolgreich gezeigt werden. In nachfolgenden Experimenten konnte durch den Vergleich mit verschiedenen cADPR-Konzentrationen eine Effektivität von 1% für die Photolyse bestimmt werden, die aber auf die geringe Intensität des eingestrahlten Lichts zurückgeführt wird.^[118] Außerdem wurde das *caged* NAADP-Derivat **33** von AARHUS *et al.* synthetisiert, welches ebenfalls durch die Reaktion von freiem NAADP **6** mit 2-Nitrophenyldiazoethan erhalten wurde.^[119] Durch die vielen reaktiven Zentren (Pyrophosphat, Monophosphat und Carboxylat) des freien NAADPs **6** wurde bei so einer unspezifischen Reaktion eine Vielzahl an Reaktionsprodukten erhalten, die fraktioniert und die einzelnen Fraktionsprodukte auf ihre photolytischen Eigenschaften in Bezug auf die NAADP-Freisetzung in Seeigelleiern untersucht wurden.^[119] Das Reaktionsprodukt in nur einer Fraktion zeigte zufriedenstellende Ergebnisse und wurde

zur Strukturanalyse erst einer Pyrophosphatase und anschließend einer Phosphatase ausgesetzt. Da dabei nur zwei Äquivalente Phosphat freigesetzt wurden, konnte auf eine NPE-Schätzung der 2'-Phosphatgruppe geschlossen werden, was nachfolgend mit ^{31}P -Spektren gestützt wurde.^[119]

YUE *et al.* konnten ebenfalls über die unspezifische Reaktion von 2-Nitrophenylethyl-diazoethan und mit freiem ADPR **1** das *caged* ADPR-Derivat **34** synthetisieren, wobei wie beim *caged* cADPR **32** ein Gemisch von zwei Regioisomeren vorlag, bei dem nur eine der beiden Phosphatgruppen des Pyrophosphats geschützt war (siehe **Abb. 4.15**).^[120]

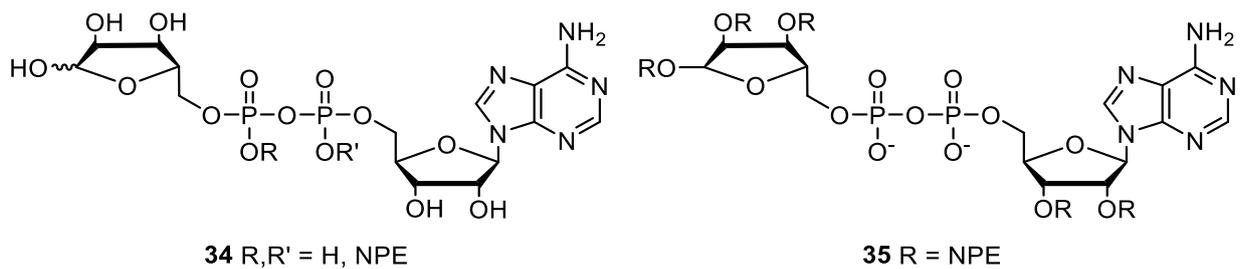


Abb. 4.15: Strukturformel des literaturbekannten *caged* ADPRs **34**, bei dem nur eine der beiden Positionen mit NPE geschützt vorliegt. Dazu ist das Nebenprodukt **35** abgebildet, welches jeweils eine NPE-Gruppe an allen Hydroxy-Funktionen und dem anomeren Zentrum gebunden hat.^[120]

Es wurde auch versucht, andere nicht weiter genannte PPGs an das Pyrophosphat zu binden, wobei es nur für die NPE-Gruppe möglich gewesen sein soll.^[120] Durch die unspezifische Reaktion wurde auch das *caged* ADPR-Derivat **35** erhalten, welches insgesamt fünf NPE-Gruppen gebunden hat, aber keine davon am Pyrophosphat vorliegt. Bei Photolyseexperimenten der mehrfach geschützten Verbindung **35** wurde kaum eine Freisetzung von ADPR **1** beobachtet und daraus geschlossen, dass die Bindung zwischen der NPE-Gruppe und den Hydroxygruppen der Ribose zu stabil für Photolysereaktionen sind.^[120] Es wird jedoch nicht berücksichtigt, dass die entstehenden Abspaltprodukte aus der Photolysereaktion ebenfalls das eingestrahelte Licht absorbieren können und damit die Effizienz mindern können. Da insgesamt fünf NPE-Gruppen pro *caged* ADPR **35** abgespalten werden müssen, sollte dieser Effekt entsprechend stark ins Gewicht fallen, weshalb nicht pauschal eine Aussage über die Stabilität der geschützten Hydroxygruppen der Ribose getroffen werden sollte. In Photolyseexperimenten vom *caged* ADPR **34** konnte jedoch die Entstehung von freiem ADPR **1** beobachtet werden, was in folgenden Experimenten durch Inkubation von Jurkat T-Zellen und humanen embryonalen Nierenzellen 293 (*human embryonic kidney* 293, HEK293) mit NPE-*caged* ADPR **34** mit anschließender Bestrahlung bei 370 nm bestätigt werden konnte, da eine erhöhte $[\text{Ca}^{2+}]_i$ durch TRPM2-Aktivierung beobachtet wurde.^[120] Dies lässt auf eine erhöhte Lipophilie und damit einhergehender guter Membranpermeabilität sowie erfolgreicher Photolyse in Zellsystemen schließen.^[120]

In den Arbeiten von YUE *et al.* werden jedoch keine expliziten Aussagen zur Freisetzungsgeschwindigkeit oder der Stabilität des photolabil-geschützten Substrats im Zellmedium beschrieben. Es wird auch nicht deutlich, ob einer der beiden Regioisomere von *caged* ADPR **34** in den beiden zuvor genannten Eigenschaften vorteilhafter oder nachteilig im Vergleich zum jeweils anderen Regioisomer in der photolytischen Anwendung im Zellmedium ist. Da das Derivat **34** auch membranpermeabel ist, könnte dieses ebenso wieder aus der Zelle diffundieren, sodass keine genaue Aussage über die innerhalb der Zelle freigesetzten Menge an ADPR **1** getroffen werden kann. Ein durch zelluläre Enzyme ausgelöster „*lock-in*“ wäre vorteilhaft, um eine möglichst große Menge des inkubierten *caged* ADPR-Derivats auch in der Zelle zu halten.

5 Aufgabenstellung

Für die Aufklärung der TRPM2-vermittelten Signalwege fehlt es bisher an einer Variation chemischer ADPR-Tools, die diese Untersuchungen vereinfachen. Während das vorgestellte *Prodrug*-Konzept von PAHNKE^[103] einen vielversprechenden Ansatz darstellt, ist die Freisetzungsgeschwindigkeit eines vollständig bioreversibel maskierten ADPR-Derivats **14** in den Hydrolysemodellen sehr langsam und für zelluläre Untersuchungen potentiell nur sehr eingeschränkt geeignet. Der aufgegriffene Ansatz von RUTHENBECK^[99] zeigt die Synthese eines schneller freisetzbaren ADPR-*Prodrugs* **15**, welches jedoch bei der Totalsynthese noch nicht genommene Hürden mit sich brachte und bisher nicht weiter in Bezug auf enzymatisch-induzierte Freisetzungsgeschwindigkeiten untersucht wurde. Das von YUE *et al.*^[120] synthetisierte *caged* ADPR **34** bietet das zurzeit benutzerfreundlichste Tool zur Untersuchung von TRPM2-induzierter Calciumfreisetzung, besitzt jedoch durch die Nutzung einer NPE-Photogruppe, dem Fehlen eines „lock-in“-Effekts und der unbekanntenen Stabilität der Verbindung **34** in wässrigem bzw. zellulärem Kontext viel Optimierungsbedarf. Eine wie von JESCHIK^[117] gezeigte Kombination aus dem AB-Konzept und photolabilen Schutzgruppen an ATP **31** bietet einen guten Kompromiss aus den vorgestellten Konzepten und könnte auf ADPR **1** angewandt ein vielversprechendes chemisches Tool darstellen. Im Rahmen dieser Arbeit gilt es ein entsprechend bioreversibel- und photolabil-maskiertes Tool zur gezielten ADPR-Freisetzung zu synthetisieren, welches die Erkenntnisse der bisher bekannten Strukturen aufgreift und optimiert, damit ein robustes Tool für reproduzierbare Experimente erhalten wird. Die Leitstruktur dieser photolabil- und bioreversibel-maskierten ADPR-Verbindungen ist **Abb. 5.1** zu entnehmen. Bei der Entwicklung dieser Leitstruktur galt es im Gegensatz zu POTTER *et al.* die Pyrophosphat-Gruppe und PAHNKE bzw. RUTHENBECK die exocyclische Aminofunktion für die Substraterkennung zu erhalten.^[99,102,103]

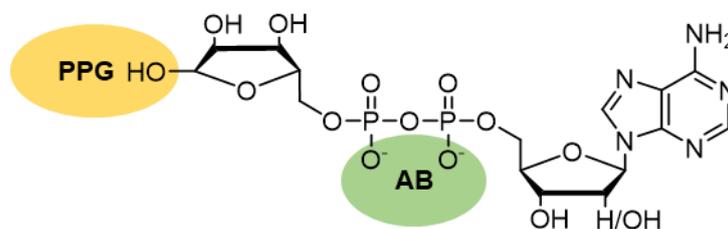


Abb. 5.1: Allgemeine Leitstruktur eines bioreversibel- und photolabil-maskierten ADPR bzw. dADPR-Derivats.

Für die Position einer PPG an ADPR ist die terminale Ribose geeignet, da diese die Substraterkennung einschränkt und damit keine biologische Aktivität des *caged* ADPR ermöglichen sollte. Hierbei bietet sich im Kontrast zum NPE-*caged* ADPR **34** als erste Veränderung die Verwendung einer NV bzw. MeNV-Schutzgruppe an ADPR an, welche im biologischen Medium potentiell weniger zellschädigende Photolysebedingungen durch eine Abspaltwellenlänge bei 350 nm ermöglichen. Ein photolabil-maskiertes ADPR kann sowohl

räumlich als auch zeitlich kontrolliert in der Zelle freigesetzt werden, doch die Verwendung einer in ihrer Lipophilie variierbaren bioreversiblen Gruppe an einer der Phosphatgruppen des Pyrophosphats bietet außerdem eine verbesserte Membranpermeabilität des neuen *caged* ADPR durch die Maskierung einer Ladung. Zusätzlich würde eine enzymatische Abspaltung dieser Gruppe in der Zelle einen „*lock-in*“-Effekt und damit verbunden eine Akkumulation des *caged* ADPR zur gezielten Steuerung der intrazellulären Konzentration des photolabil-maskierten Agonisten ermöglichen. Da dADPR als Superagonist von TRPM2 bekannt ist, sollte außerdem ein entsprechend maskiertes dADPR hergestellt werden.

Die synthetisierten maskierten (d)ADPR-Derivate gilt es anschließend auf ihre Photolyse-eigenschaften, ihre chemische und enzymatische Stabilität zu untersuchen, die daraus erhaltenen Erkenntnisse zu evaluieren und in der Entwicklung neuer Generationen an Derivaten mit verbesserten Eigenschaften zu nutzen.

6 Ergebnisse und Diskussion

Im folgenden Kapitel werden die Synthesen von bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivaten vorgestellt und die Zielstrukturen experimentell in Bezug auf Photolyse-eigenschaften und chemischer sowie enzymatischer Stabilität evaluiert. Diese Ergebnisse bilden die Basis zur Synthese von neuen bioreversibel-maskierten *caged* Derivaten mit schnellerer enzymatischer Abspaltung sowie den entsprechenden demaskierten *caged* ADPR-Derivaten zur Referenz. Abschließend wird auf die Synthese und Untersuchungen von, mit nur einer Maske geschütztem, ADPR eingegangen, welches eine Kombination aus bioreversibler Maskierung und photolabiler Schutzgruppe enthält.

6.1 Erste Generation von bioreversibel-maskiertem *caged* (d)ADPR

Die vier Derivate der ersten Generation von bioreversibel-maskiertem *caged* ADPR **36** und **37** bzw. *caged* dADPR **38** und **39** sind in dem Retrosyntheschema in **Abb. 6.1** dargestellt. Diese stellen eine Variation aus den von PAHNKE und RUTHENBECK synthetisierten ADPR-Derivaten **14** und **15** sowie dem dADPR-Derivat **16** dar.^[99,103]

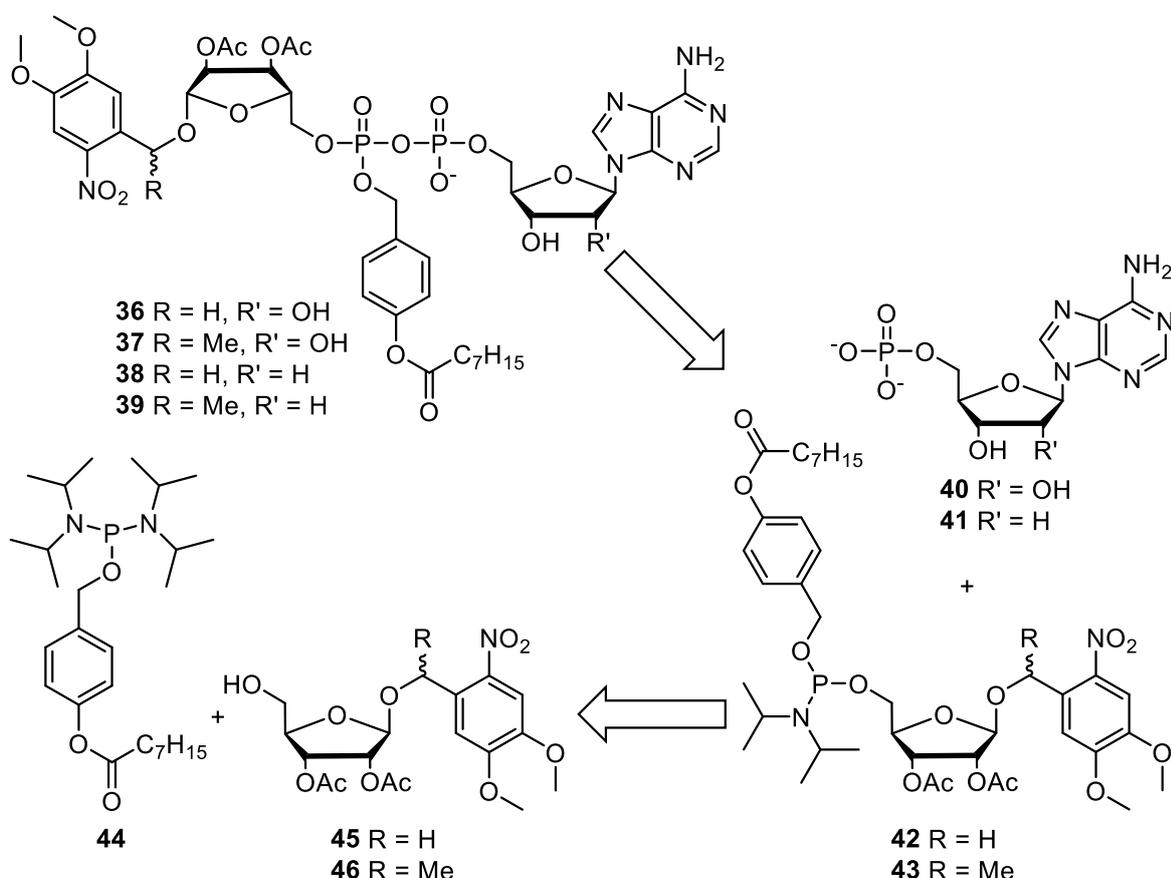


Abb. 6.1: Retrosyntheschema zur Synthese der OB-maskierten *caged* ADPR- und dADPR-Derivate **36** - **39** aus AMP **40** und 2'-Desoxy-AMP (dAMP) **41** und den Amiditen **42** bzw. **43**, welche aus den Verbindungen **44** und **45** bzw. **46** synthetisiert werden können.

Analog zu RUTHENBECKs Verbindungen **15** und **16** soll eine negative Ladung des β -Phosphats der Pyrophosphat-Einheit durch eine bioreversible Maskierung mit einer OB-Gruppe maskiert werden.^[99] Statt einer bioreversiblen Maskierung der terminalen Ribose wird eine NV- bzw. MeNV-Gruppe das anomere Zentrum des Moleküls photolabil schützen. Die NV-geschützten Derivate **36** und **38** sollen mit den MeNV-geschützten Derivaten **37** und **39** in ihren photolytischen Eigenschaften verglichen werden, da die Verwendung einer schneller abspaltbaren MeNV-Gruppe mit dem Nachteil eines zusätzlichen Stereozentrums einhergeht. Dieses kann zusätzliche Herausforderungen bei der Synthese und der analytischen Auswertung der synthetisierten Verbindungen mit sich bringen, sodass die Vor- und Nachteile der Verwendung einer MeNV-Schutzgruppe bei den Derivaten **37** und **39** durch den Vergleich mit den NV-Derivaten **36** und **38** miteinander abgewogen werden sollen. Da RUTHENBECK bei der abschließenden Entschützung der silylierten Derivate **17** und **18** stets eine signifikante Zersetzung des Pyrophosphat-Rückgrats beobachtet hatte, wird auf eine chemische Abspaltung der Schutzgruppen verzichtet und stattdessen werden in Anlehnung an PAHNKEs Derivat **14** bioreversible Acetyl-Schutzgruppen verwendet.^[99,103] PAHNKE konnte bereits zeigen, dass Acetyl-Gruppen ebenso wie die OB-Gruppe enzymatisch abgespalten werden können, sodass diese nach der erfolgreichen Aufnahme ins Zellmedium abgespalten werden sollten. Da zudem bekannt ist, dass das einfach acetylierte ADPR-Derivat OAADPR **4** auch TRPM2 aktivieren kann,^[32,36] erhöht dies die Wahrscheinlichkeit eines agonistischen Effekts, da auch das Intermediat, welches nach Abspaltung nur einer Acetyl-Gruppe erhalten wird, auch bioaktiv reagieren könnte, sollte die Photolyse vor unvollständiger enzymatischer Abspaltung eingeleitet werden. Da von PAHNKE die enzymatische Abspaltung von Acetyl-Gruppen als zeitaufwendig beschrieben wird, sollen im Gegensatz zu dem Derivat **14** keine weiteren Acetyl-Gruppen (oder eine Butanoyl-Gruppe wie bei RUTHENBECKs Derivat **15**) am Adenosin vorliegen, damit eine möglichst schnelle enzymatische Umsetzung zum freien *caged* ADPR erfolgen kann. Dieser Ansatz ermöglicht bei der retrosynthetischen Analyse der Verbindungen **36** - **39** den Vorteil, dass die Zielverbindungen durch Kupplungsreaktion aus den kommerziell leicht erhältlichen, underivatisierten Monophosphaten AMP **40** und dem 2'-Desoxy-AMP (dAMP) **41** sowie den asymmetrischen Amiditen **42** und **43** erhalten werden sollen, anstatt wie RUTHENBECK und PAHNKE die Nucleoside vorher modifizieren zu müssen. Die asymmetrischen Amidite **42** und **43** sollen aus der Kupplungsreaktion vom symmetrischen OB-Amidit **44** und den entsprechenden 2,3-acetylierten *caged* Ribose-Derivaten **45** und **46** erhalten werden. Das OB-Amidit **44** kann analog über die von PAHNKE verwendete Route zur Synthese von AB-geschützten Amiditen erfolgen, indem der OB-Alkohol **47** mit *N,N*-Diisopropylaminchlorphosphin **48** umgesetzt wird (siehe **Abb. 6.2**). Der OB-Alkohol kann über

die etablierten Synthesen für AB-Alkohole aus der Veresterung von 4-Hydroxybenzylalkohol **49** mit Octanoylchlorid **50** erhalten werden.

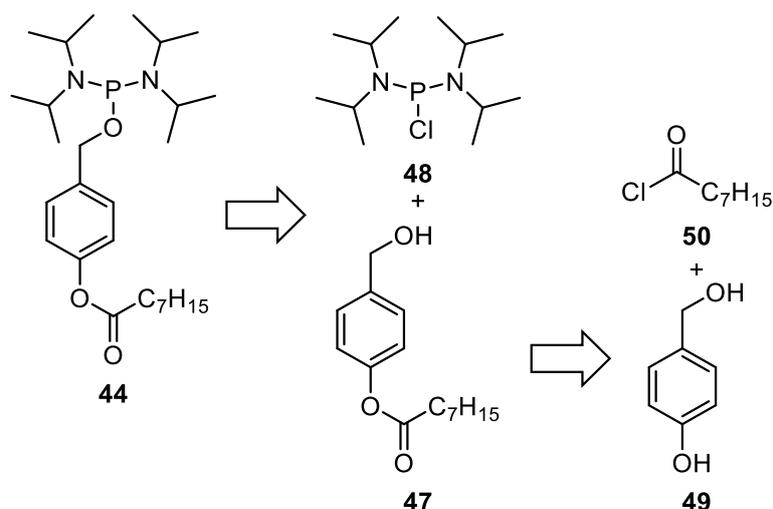


Abb. 6.2: Retrosyntheseschema zur Synthese des symmetrischen OB-Amidits **44** aus dem OB-Alkohol **47** und Chlorphosphin **48**. Der OB-Alkohol **47** kann durch Reaktion des 4-Hydroxybenzylalkohols **49** und Octanoylchlorid **50** synthetisiert werden.

Die acetylierten *caged* Ribose-Derivate **45** und **46** können durch gezielte Schutzgruppenkonzepte aus den ungeschützten *caged* Ribose-Derivaten **51** und **52** hergestellt werden (siehe **Abb. 6.3**). Die Derivate **51** und **52** sollen durch die β -selektive Glycosylierung des Glycosyl-Donors **53** mit den entsprechenden Alkoholen **54** und **55** hergestellt werden, welche zuvor durch Reduktion der jeweiligen nitrierten Carbonylverbindungen **56** und **57** erhalten werden können.

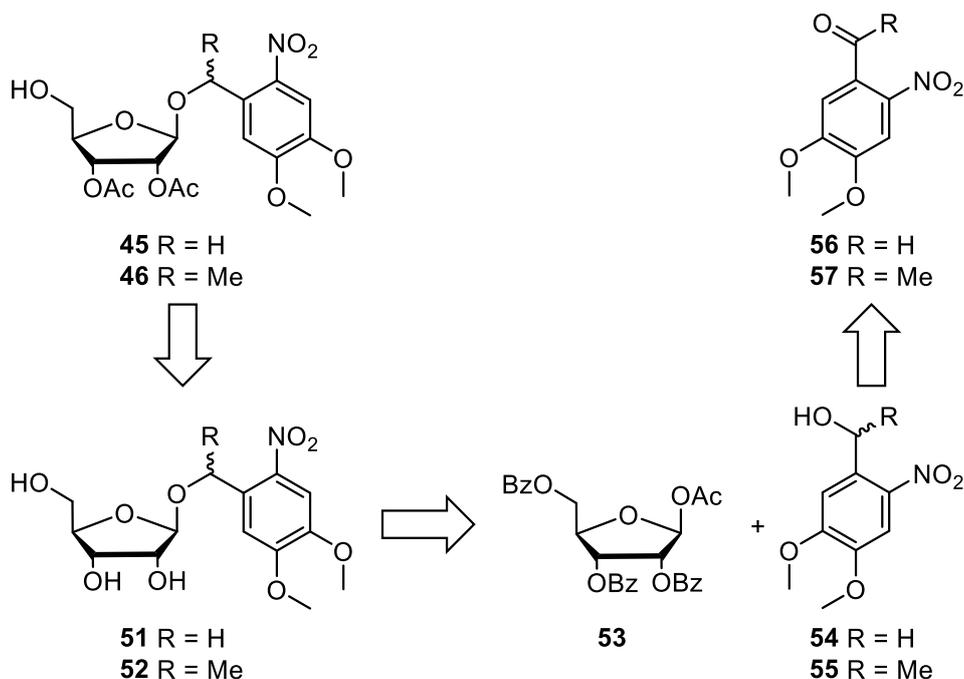


Abb. 6.3: Retrosyntheseschema zur Synthese des acetylierten Ribose-Bausteins **45** bzw. **46** aus der ungeschützten *caged* Ribose **51** bzw. **52**. Diese Verbindungen können aus der Reaktion vom Glycosyl-Donor **53** mit dem NV- bzw. MeNV-Alkohol (**54** bzw. **55**) erhalten werden, nachdem dieser aus der Reduktion des entsprechenden nitrierten Aldehyds **56** bzw. Ketons **57** hergestellt wurde.

6.1.1 Synthese der bioreversiblen Maske und der photolabilen Schutzgruppen

Die Synthese des Octanoyloxybenzylalkohols **47** erfolgte angelehnt an die Vorschrift von GOLLNEST zur Synthese von AB-Alkoholen (siehe **Abb. 6.4**).^[121] Hierbei wurde der 4-Hydroxybenzylalkohol **49** in Tetrahydrofuran mittels Triethylamin-induzierter Regio-selektivität gezielt am Phenol mit Octanoylchlorid **50** verestert.

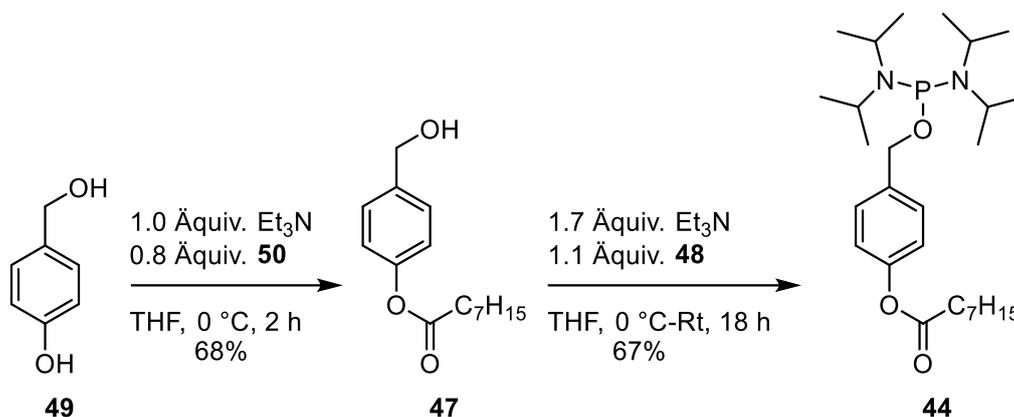


Abb. 6.4: Syntheseroute der Veresterung des Alkohols **49** zum Ester **47**, welcher anschließend zum symmetrischen Amidit **44** umgesetzt wurde.

Bei der Veresterung zur Verbindung **47** konnte eine gute Ausbeute von 68% erreicht werden, die damit geringfügig höher als die von GOLLNEST beschriebenen Ausbeuten von 46 - 62% für die Synthese vergleichbarer AB-Alkohole ist.^[121] Anschließend wurde der OB-Alkohol **47** durch Verwendung von *N,N*-Diisopropylaminchlorphosphin **48** zum symmetrischen Amidit **44** umgesetzt, was angelehnt an die Vorschrift von RUTHENBECK zur Synthese von symmetrischen Amiditen erfolgte.^[99] Hierbei wurde mit 67% eine ähnliche Ausbeute zu der von RUTHENBECK erreichten Ausbeute von 71% zur Synthese der Verbindung **44** erhalten. Unterschiede in den Ausbeuten können auf die Empfindlichkeit des Phosphoratoms zur Oxidation von einer P^{III} - zur P^{V} -Verbindung bzw. in diesem Kontext vom Amidit zum Amidat zurückgeführt werden. Ebenso ist die Labilität der Amidit-Gruppen unter leicht aciden Bedingungen zu erwähnen, die zur Substitution der Gruppe mit einem Nucleophil führen kann. Aus diesem Grund erfolgt bei der säulenchromatographischen Reinigung ein Zusatz von bis zu fünf Volumenprozent Base, in diesem Fall Triethylamin, zum Elutionsmittel, damit die schwach aciden Eigenschaften des verwendeten Silicagels kompensiert werden. Die Identität des Amidits wurde abschließend im gemessenen ^{31}P -NMR-Spektrum der Verbindung **44** durch das charakteristische Signal bei 123.5 ppm bestätigt.

Da im Gegensatz zum NV-Keton **56** das MeNV-Keton **57** nur eingeschränkt kommerziell erhältlich ist, wurde dieses zunächst in einer Nitrierung aus dem 3,4-Dimethoxyacetophenon **58** hergestellt. Die Synthese erfolgte hierbei nach der Vorschrift von JESCHIK durch Nitrierung mithilfe von konzentrierter Salpetersäure und Essigsäureanhydrid (siehe **Abb. 6.5**).^[108]

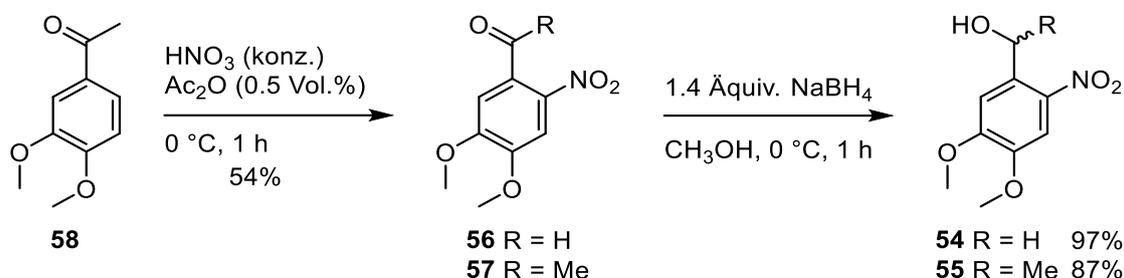


Abb. 6.5: Nitrierung des Acetophenons **58** zum MeNV-Keton **57**. Der NV-Alkohol **54** und MeNV-Alkohol **55** wurden durch Reduktion des Aldehyds **56** bzw. Ketons **57** erhalten.

Diese Reaktionsbedingungen stellen eine milde Methode zur Bildung von Nitronium-Ionen dar. Das Essigsäureanhydrid acetyliert das Nitrat-Ion zum Acetylnitrat, welches in Lösung zum Acetat- und Nitronium-Ion dissoziiert und anschließend zur Nitrierung zur Verfügung steht. Mit den beschriebenen Bedingungen konnte eine Ausbeute von 54% erzielt werden, welche etwas geringer als die von JESCHIK beschriebene Ausbeute von 64% ausfiel.^[108] Eine mehrfache Nitrierung des Edukts **58** lässt sich nicht vermeiden, worauf ein Teil des Ausbeuteverlustes zurückgeführt werden kann. Da das Produkt **57** zur Reinigung umkristallisiert wurde, dabei aber stets Nebenprodukte mit ausgefallen sind, musste dieser Schritt mehrmals wiederholt werden, bis eine ausreichende Reinheit des Produkts **57** erhalten wurde, was zu weiteren Ausbeuteverlusten geführt haben könnte. Folgend wurde das synthetisierte Keton **57** und der kommerziell erhaltene NV-Aldehyd **56** nach der Vorschrift von JESCHIK in Methanol mit Natriumborhydrid zu den Alkoholen **54** und **55** reduziert. JESCHIK beschreibt, dass für die Produkte aus den Reduktionsreaktionen nach einer wässrigen Aufarbeitung keine weiteren Reinigungsschritte nötig sind,^[108] jedoch hat sich für den Einsatz der Alkohole **54** und **55** in nachfolgenden Reaktionen für einen erhöhten Umsatz eine vorige säulenchromatographische Reinigung dieser als vorteilhaft erwiesen. Es wird vermutet, dass im Gegensatz zur wässrigen Aufarbeitung die bei der Reduktion entstehenden Borsäuresalze nur bei einer säulenchromatographischen Reinigung komplett abgetrennt werden konnten. Dies könnte ein Hinweis sein, weshalb die erzielten Ausbeuten von 97% und 87% geringfügig niedriger als die von JESCHIK erzielten quantitativen Ausbeuten sind.^[108] Da bei der Reaktion Natriumborhydrid eingesetzt wurde, entstehen beide Stereoisomere des jeweiligen Alkohols **55** mit gleicher Wahrscheinlichkeit, sodass ein racemisches Gemisch erhalten wurde.

6.1.2 Synthese des acetylierten *caged* Ribose-Bausteins

Die Glycosylierungsreaktion von 1-Acetyl-2,3,5-tribenzoyl- β -D-ribofuranose **49** und dem NV-Alkohol **54** erfolgte nach der Vorschrift von TRZUPEK *et al.* und wurde entsprechend auf die analoge Reaktion mit dem MeNV-Alkohol **55** übertragen (siehe **Abb. 6.6**).^[122] Hierbei handelt es sich um eine Lewis-Säure (*Lewis acid*, LA) vermittelte Glycosylierungsreaktion unter Verwendung von Zinn(IV)chlorid als Katalysator. Der entsprechende Mechanismus ist ebenfalls in **Abb. 6.6** dargestellt. Hierbei polarisiert die LA die Acetylgruppe am anomeren Zentrum des Glycosyldonors **49** und ermöglicht durch den Nachbargruppeneffekt einen Ringschluss der Carbonylgruppe der 2-Benzoylgruppe, die die Abspaltung eines Acetatanions und der LA zur Folge hat. Das daraus gebildete mesomeriestabilisierte bicyclische Dioxaleniumion **59** blockiert durch den geschlossenen Ring die Addition der Benzylalkohole **54** bzw. **55** von einer Seite, weshalb die Addition bevorzugt von der sterisch weniger gehinderten Seite stattfindet und dementsprechend selektiv das β -Anomer der geschützten *caged* Ribose-Derivate **60** und **61** gebildet werden.^[123]

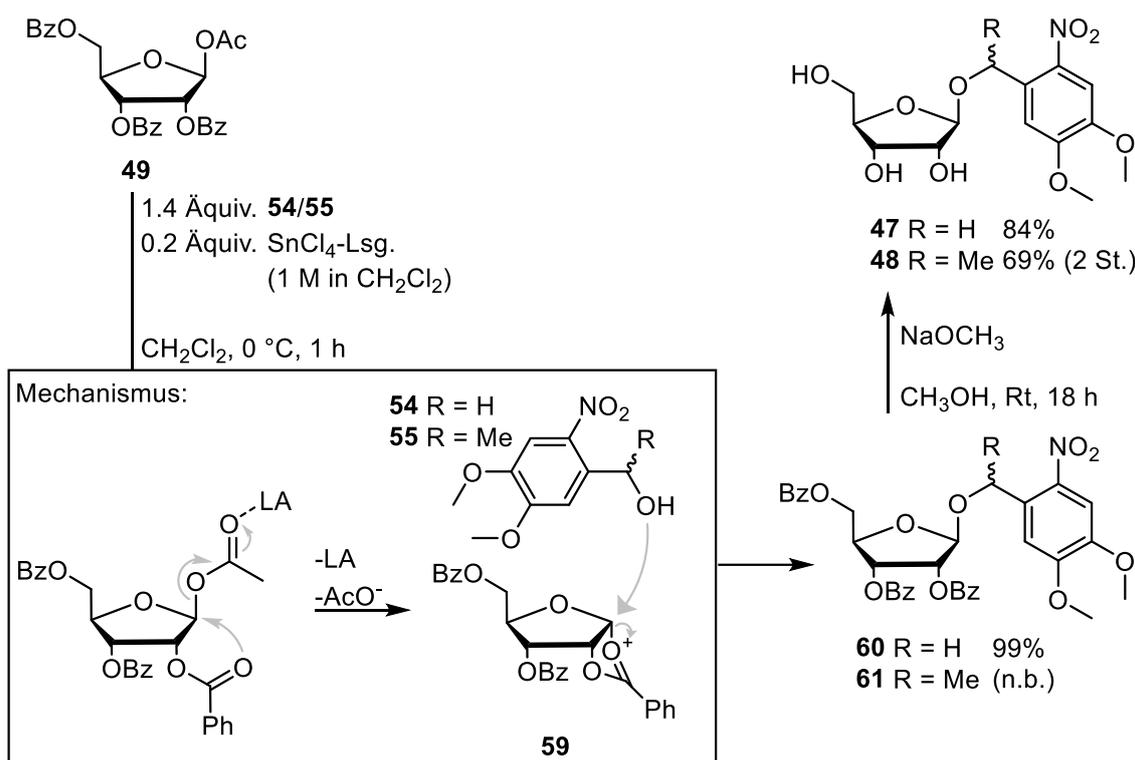


Abb. 6.6: Synthese der NV- bzw. MeNV-Ribose-Derivate **60** bzw. **61** aus dem Glycosyl-Donor **49** und den Alkoholen **54** bzw. **55** sowie mechanistische Darstellung der Glycosylierungsreaktion. Nach Abspaltung der Benzoylgruppen wurden die Verbindungen **47** und **48** erhalten.

Während die Reaktion in der Vorschrift von TRZUPEK *et al.* über Nacht durchgeführt wurde, konnte durch dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktionen für die Synthese der Derivate **60** und **61** ein vollständiger Umsatz nach durchschnittlich einer Stunde zum NV-Derivat **60** bzw. zwei Stunden zum MeNV-Derivat **61** beobachtet werden. Die Ausbeute zur Synthese des NV-Derivats **60** entspricht mit 99% der Literaturausbeute von 96%.^[122]

Da bei der Glycosylierungsreaktion mit dem racemischen Gemisch des sekundären Alkohols **55** ein 1:1-Gemisch der Verbindung **61** aus zwei Diastereomeren entsteht, wurde durch die nur geringfügig unterschiedlichen Retentionsfaktoren der beiden Diastereomere auf eine Isolierung der Produkte verzichtet. Das Diastereomerengemisch wurde nur grob gereinigt und direkt für die nächste Reaktion verwendet. Da beide Stereoisomere von einer mit MeNV-Gruppe photolabil maskierten Verbindung die gleiche Abspaltgeschwindigkeiten bei der Photolyse aufweisen sollten, ist auch eine Trennung der Diastereomere nicht notwendig und es wird zur Vereinfachung in Bezug auf allen folgenden diastereomeren Reaktionsprodukten statt vom Produktgemisch nur vom jeweiligen Produkt gesprochen. Anschließend wurde analog zur Vorschrift von TRZUPEK *et al.* für die folgende basische Abspaltung der Benzoylschutzgruppen methanolische Ammoniak-Lösung (7 M) verwendet,^[122] jedoch konnte ein vollständiger Umsatz erst nach einer Reaktionsdauer von mehreren Tagen und wiederholter Zugabe der Ammoniak-Lösung beobachtet werden. Nach der abschließenden Reinigung konnte über diese Methode die NV-Ribose **47** in einer mit der Literatursausbeute von 86% vergleichbaren Ausbeute von 90% erhalten werden.^[122] Durch die lange Reaktionsdauer wurde jedoch ebenfalls die Abspaltung der Benzoylgruppen zur Verbindung **47** durch Zugabe von Natriummethanolat in Methanol untersucht. Hierfür wurde nach der Vorschrift von MARINO *et al.* gehandelt,^[124] welche die Zugabe einer großen Menge Natriummethanolat und eine Reaktionsdauer über Nacht vorschreibt, jedoch eine katalytische Menge an Natriummethanolat und eine Reaktionsdauer von wenigen Stunden ausreichend sind. Unter diesen Bedingungen wurden anschließend ebenfalls die Benzoylgruppen des Rohprodukts **61** abgespalten und die MeNV-geschützte Ribose **48** in einer Ausbeute von 69% über zwei Stufen erhalten. Diese Ausbeute liegt entsprechend unter der des NV-Derivats **47**, welches mit einer Gesamtausbeute von 84% über zwei Stufen aus dem Glycosyldonor **49** erhalten werden konnte. Dementsprechend scheint das sekundäre Derivat **55** im Vergleich zum NV-Alkohol **54** eine leicht geringere Reaktivität in der Glycosylierungsreaktion oder der folgenden Debenzoylierungsreaktion aufzuweisen oder das Reaktionsprodukt unter den verwendeten Bedingungen weniger stabil zu sein.

Damit die selektiv an 2- und 3-Position acetylierten *caged* Ribose-Derivate **45** und **46** erhalten werden konnten, mussten zuvor die ungeschützten *caged* Ribose-Derivate **47** und **48** selektiv an der 5-Hydroxygruppe mit einer zu Acetylgruppen orthogonal abspaltbaren Schutzgruppe modifiziert werden. Hierfür wurde die *tert*-Butyldimethylsilylgruppe (TBS) als geeignete Schutzgruppe gewählt, welche in Anlehnung zur Vorschrift von PAHNKE^[125] durch die Verwendung von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) in Pyridin durch die unterschiedlichen Reaktivitäten der Hydroxygruppen der primären 5-Position und der sekundären 2- und 3-Positionen selektiv an 5-Position eingeführt werden konnte und durch anschließende Zugabe von Essigsäureanhydrid die vollständig geschützten *caged* Ribose-

Derivate **62** und **63** erhalten werden konnten (siehe **Abb. 6.7**). Die Ausbeute des NV-Derivats **62** betrug 81% und die des MeNV-Derivats **63** 85%.

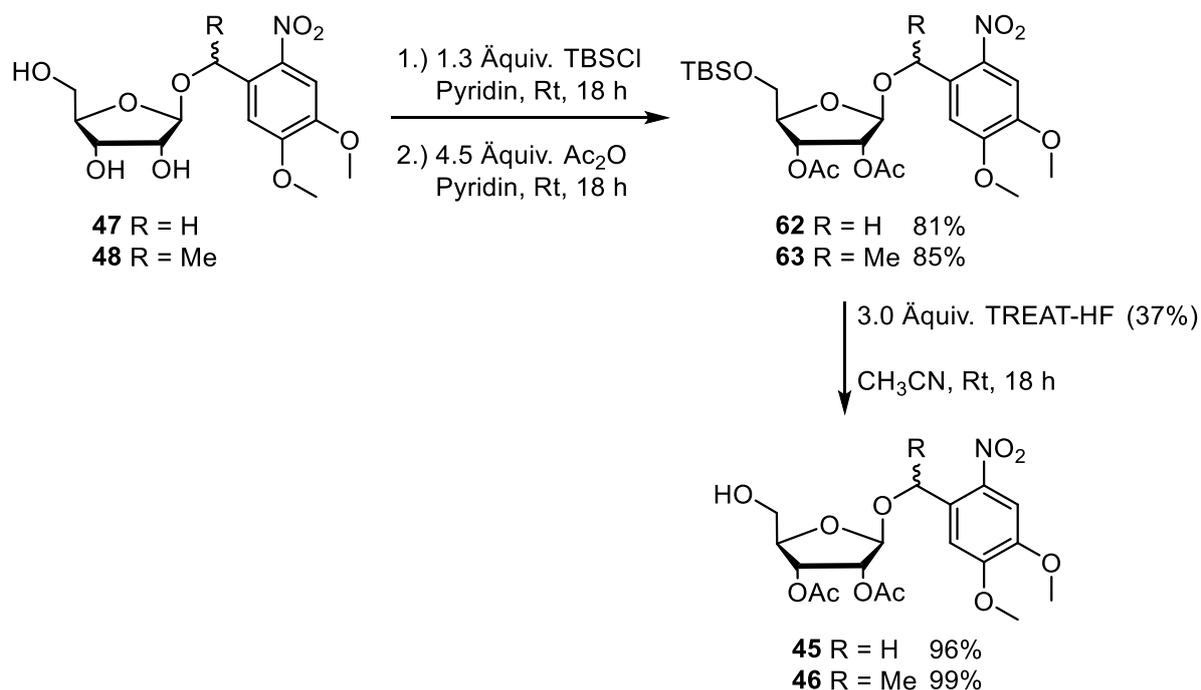


Abb. 6.7: Synthese der acetylierten Verbindungen **45** und **46** aus den *caged* Ribose-Derivaten **47** und **48** über die vollständig geschützten Derivate **62** und **63**.

In Anlehnung an die Vorschrift von RUTHENBECK wurden die TBS-Gruppen der silylierten Verbindungen **62** und **63** anschließend durch Verwendung des Desilylierungsreagenzes TREAT-HF in Acetonitril selektiv abgespalten. Die acetylierten *caged* Ribose-Derivate **45** und **46** konnten in sehr guten Ausbeuten von 96% bzw. 99% erhalten werden.^[99]

6.1.3 Synthese der acetylierten OB-maskierten *caged* ADPR-Derivate

Für die nächste Reaktion wurde die Reaktivität des Phosphoramidits **44** genutzt, indem durch Zusatz einer schwachen Säure, in diesem Fall Pyridiniumtrifluoacetat (PyTFA), die Diisopropylaminfunktion protoniert und damit eine gute Abgangsgruppe erzeugt wurde. Durch Addition des Pyridins an das Phosphoratom wird Diisopropylamin eliminiert und eine reaktive Zwischenstufe gebildet. Diese ermöglicht die anschließende Kupplung der Zwischenstufe mit einem Nucleophil, in diesem Fall die 5-Hydroxygruppe der *caged* Ribose-Derivate **45** bzw. **46**, unter Abspaltung des Pyridinrings.^[126] Das Produkt aus jeweils einem Äquivalent eines der Ribose-Derivate **45** bzw. **46** und dem symmetrischen Amidit **44** hat die Bildung der asymmetrischen Amidite **42** und **43** zur Folge (siehe **Abb. 6.8**). Diese Reaktion wurde zuerst mit einem Überschuss an Nucleophil und stöchiometrischen Mengen des aciden Aktivators in Acetonitril erprobt, jedoch konnten nach der säulenchromatographischen Reinigung der Rohprodukte, wieder mit einem Zusatz von fünf Volumenprozent Triethylamin im Elutionsmittel, die jeweiligen Reaktionsprodukte **42** und **43** wiederholt nur verunreinigt mit entsprechend ungenauen Ausbeuten über mindestens 88% erhalten werden.

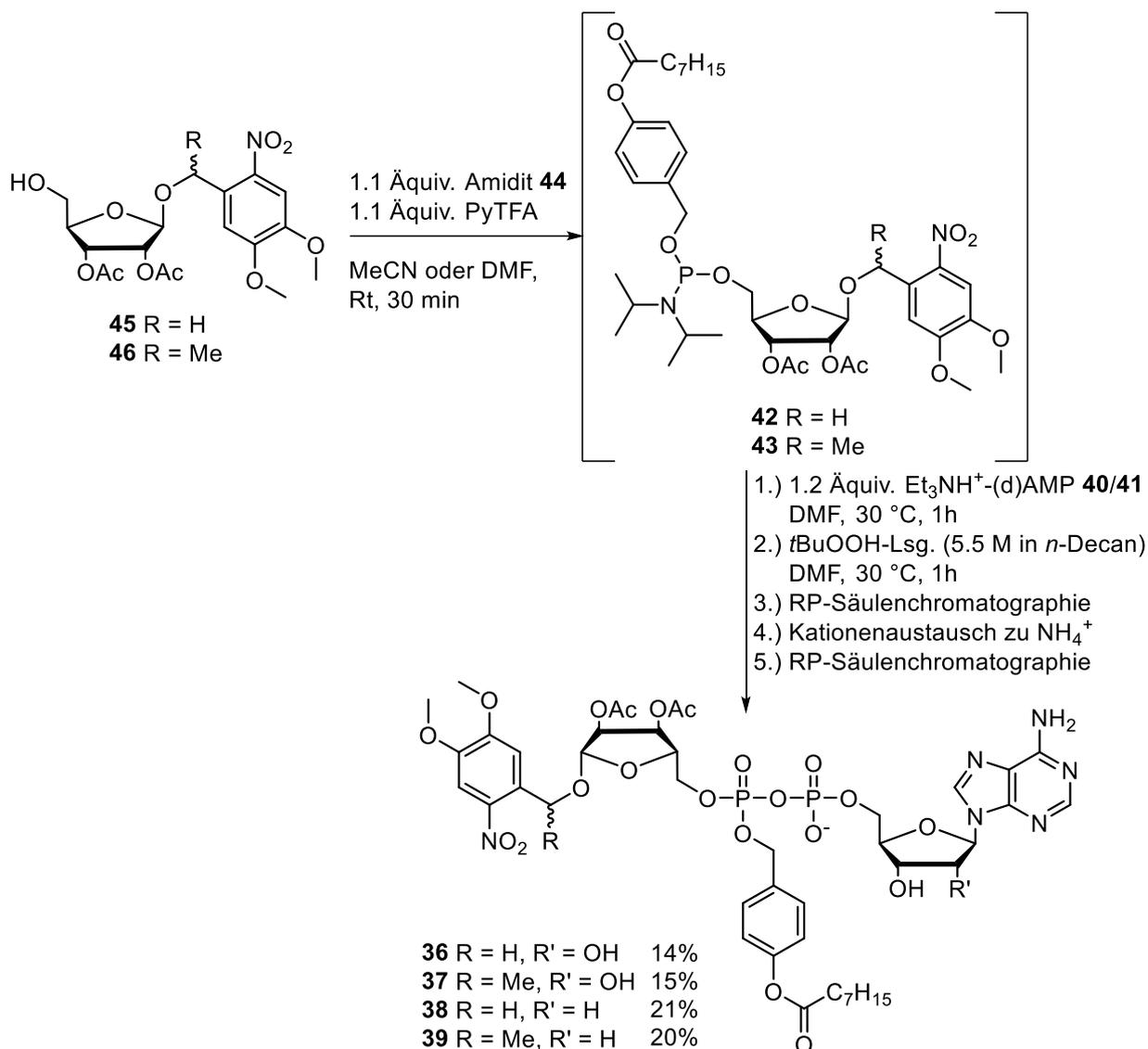


Abb. 6.8: Reaktion der Ribose-Derivate **45** und **46** mit dem symmetrischen Amidit **44** zu den Zielverbindungen **36** - **39** über die asymmetrischen Amidite **42** und **43**.

Die verunreinigten Reaktionsprodukte wurden in der nächsten Reaktion für die PyTFA-vermittelte Kupplung mit Triethylammonium-AMP **40** verwendet. Das Triethylammoniumsalz vom Monophosphat **40** wurde ausgehend vom Natriumsalz durch Kationenaustausch an Dowex®-Harz mit insgesamt 1.0 Äquiv. Triethylammoniumionen erhalten. Für die Kupplungsreaktion wurde ein 1:1-Gemisch aus Acetonitril und *N,N*-Dimethylformamid (DMF) als Lösungsmittel verwendet, in dem das Monophosphat **40** jedoch nur bedingt löslich war. Nach der abschließenden Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid konnten in diesen Fällen die ADPR-Zielstrukturen **36** und **37** nicht erhalten werden. Es wurden ausgehend von den Ribose-Derivate **45** bzw. **46** mit einem leichten Überschuss des Amidits **44** erneut die Kupplungsreaktionen unter acider Aktivierung in Acetonitril durchgeführt, doch da die asymmetrischen Amidite **42** bzw. **43** zuvor nicht isoliert werden konnten, wurde auf eine weitere Reinigung verzichtet und direkt die nächste Reaktion durchgeführt. Hierfür wurde das Lösungsmittel entfernt, DMF und AMP **40** zugegeben und die Lösung schwach auf 30 °C

erwärmt, damit eine leicht bessere Löslichkeit des Monophosphats **40** erreicht werden konnte. Nach der anschließenden Oxidation, einer ersten Reinigung via automatisierter *reversed phase* (RP) Säulenchromatographie, dem Austausch der Kationen zu Ammoniumionen und abschließender Reinigung via RP-Säulenchromatographie konnten sowohl das NV-ADPR-Derivat **36** als auch das MeNV-ADPR-Derivat **37** mit Ausbeuten von 14% bzw. 15% erhalten werden. Für die Synthese der dADPR-Derivate **38** und **39** konnten die Reaktionsbedingungen erfolgreich übertragen werden. Hierbei wurde als Monophosphat dAMP **41** mit 1.4 Äquiv. Triethylammoniumionen verwendet, welches ebenfalls via Ionenaustauscharz erhalten wurde. Als einziger Unterschied zu den zuvor beschriebenen Kupplungsreaktionen wurde direkt bei der Synthese der asymmetrischen Amidite **42** und **43** DMF statt Acetonitril verwendet, damit ein Tausch des Lösungsmittels zwischen den Kupplungsschritten entfällt. Das NV-dADPR **38** konnte mit einer Ausbeute von 21%, das MeNV-dADPR **39** mit einer Ausbeute von 20% erhalten werden. Dies bestätigt, dass die Kupplungsreaktion auch auf das 2'-Desoxynucleotid übertragen werden konnte. Die leicht höhere Ausbeute der dADPR-Derivate **38** und **39** gegenüber der ADPR-Derivate **36** und **37** könnte auf das dAMP **41** zurückgeführt werden, da es durch die höhere Anzahl an Triethylammonium-Gegenionen und der fehlenden 2'-Hydroxygruppe eine höhere Löslichkeit als das AMP **40** in DMF aufwies. Die Ausschnitte der ^{31}P -NMR-Spektren der Zielstrukturen **36** bis **39** sind in **Abb. 6.9** dargestellt und bestätigen die Kupplungsreaktion durch die für Dinucleotide charakteristische chemische Verschiebung zwischen -11 - -13 ppm.

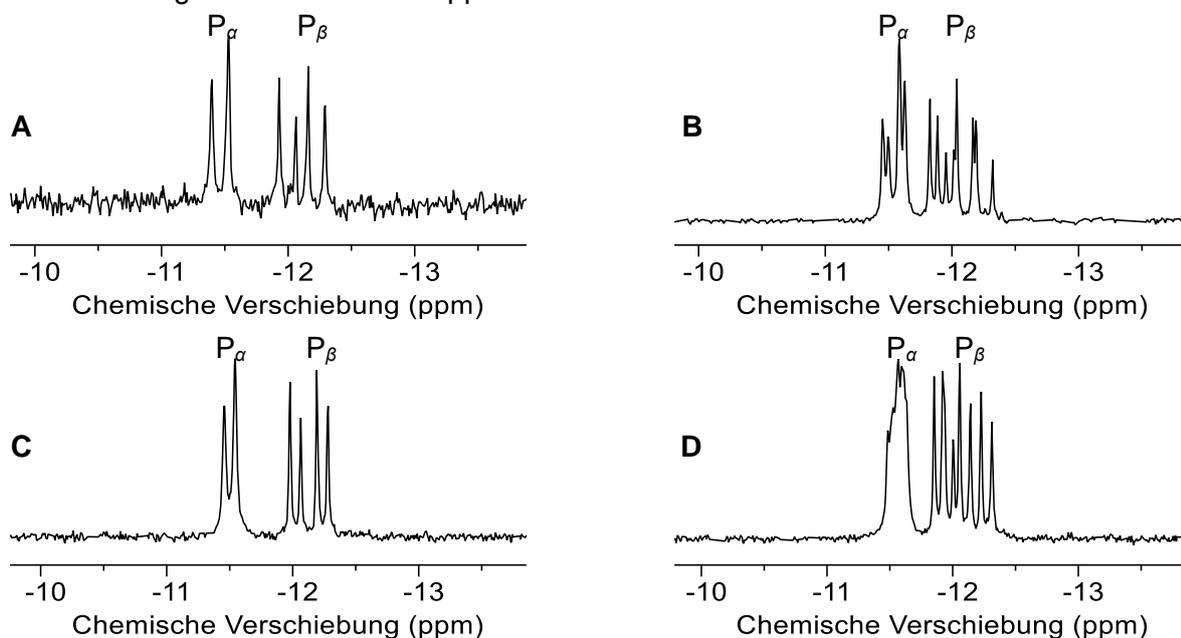


Abb. 6.9: Ausschnitte der ^{31}P -NMR-Spektren der acetylierten Zielstrukturen: **A:** NV-ADPR **36** (DMSO- d_6 , 400 MHz, 300 K), **B:** MeNV-ADPR **37** (DMSO- d_6 , 400 MHz, 300 K), **C:** NV-dADPR **38** (DMSO- d_6 , 600 MHz, 300 K), **D:** MeNV-dADPR **39** (DMSO- d_6 , 600 MHz, 300 K).

Da aufgrund des chiralen Zentrums am maskierten Phosphatriester Diastereomere entstehen, werden bei den NV-Derivaten **36** und **38** jeweils zwei Diastereomere, durch die Methylgruppe der MeNV-Gruppe der Derivate **37** und **39** sogar vier Diastereomere erhalten. Die jeweils zwei Diastereomere der NV-Derivate **36** und **38** sind am Kopplungsmuster der ^{31}P -Signale gut zu erkennen. Es sind jeweils zwei Dubletts mit eindeutigem Dach-Effekt für die miteinander koppelnden Phosphoratome zu beobachten, wobei die Dubletts des α -Phosphats direkt überlagern. Die eindeutige Zuordnung der jeweils vier Diastereomere der MeNV-Verbindungen **37** und **39** ist nur eingeschränkt möglich, jedoch ist auch eine Trennung der Signale der α - und der chiralen β -Phosphatgruppen der Diastereomere zu erkennen. Diese Aufspaltungsmuster der Diastereomere der Verbindungen **36** bis **39** bestätigen, dass die lipophile Maskierung am Phosphat während der Synthese und Aufarbeitung erhalten bleibt.

6.1.4 Erste Photolyseexperimente an ADPR

Damit die Freisetzung von ADPR **1** in einem Photolyseexperiment gewährleistet ist, sollte zuvor geklärt werden, ob ADPR **1** bei den Photolysebedingungen keine Reaktionen eingeht oder durch eine nebenbei stattfindende Abspaltung einer Photogruppe die ADPR **1** Konzentration beeinflusst wird. Für die entsprechenden Experimente wurden die in Kapitel 7.1.6 aufgelisteten Bedingungen für Photolysen verwendet. In dem ersten Experiment wurde kommerziell erhältliches ADPR **1** gelöst und mit einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt. Es wurden anschließend Proben zu bestimmten Zeitpunkten entnommen und diese via Hochleistungsflüssigchromatographie (*high performance liquid chromatography*, HPLC) analysiert. Die Chromatogramme der Proben einzelner Zeitpunkte sind in **Abb. 6.10 A** dargestellt. Bei der Betrachtung des Wasserfalldiagramms wird ersichtlich, dass das ADPR **1** während der gesamten Photolysedauer unverändert vorliegt und somit auch in Freisetzungsreaktionen via Photolyse angewendet werden kann.

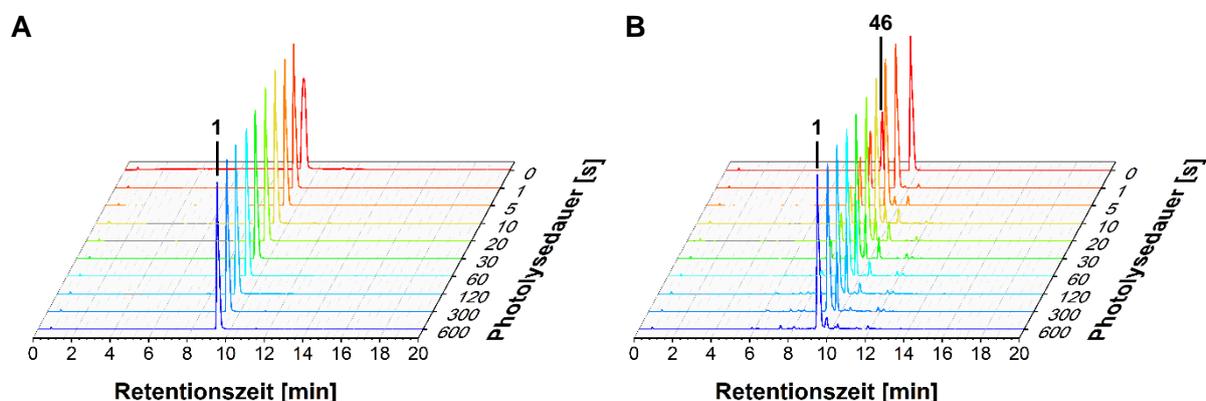


Abb. 6.10: Wasserfalldiagramme der Photolyseexperimente (Bestrahlungswellenlänge: 365 nm) an ADPR **1** ohne (A) und mit Zusatz von MeNV-Ribose **46** (B).

In **Abb. 6.10 B** sind die Chromatogramme von dem Photolyseexperiment dargestellt, in dem freies ADPR **1** zusammen mit der MeNV-Ribose **46** gelöst und bei 365 nm bestrahlt wurde. Dieses Experiment galt der Überprüfung, ob bereits aus der Photolyse freigewordenes ADPR **1** in irgendeiner Weise durch eine noch stattfindende Photolysereaktion beeinflusst wird. Aus dem Wasserfalldiagramm wird ersichtlich, dass der Peak des MeNV-Ribose-Derivats **46** über Zeit abnimmt, was ein erster Hinweis für eine erfolgreiche Photolysereaktion ist. Die freigesetzte Ribose ist im Chromatogramm nicht zu erkennen, da diese keine UV-Strahlung bei 254 nm absorbiert und dementsprechend nicht vom DAD-Detektor erkannt wird. Das Spaltprodukt der Photolysereaktion ist jedoch auch nicht eindeutig zuordbar. Es ist die Bildung zwei neuer Peaks bei einer Retentionszeit von ca. 10 min zu erkennen, diese nehmen im Verlauf der Reaktion wieder ab und sind nach einer Photolysedauer von insgesamt zehn Minuten im Prinzip nicht mehr vorhanden und es ist einzig der Peak des ADPRs **1** zu beobachten. Dies könnte darauf hinweisen, dass die neu gebildeten Peaks mit dem Nitrosospaltprodukt assoziiert werden können, welches über die gesamte Bestrahlungsdauer jedoch weitere Reaktionen zu einer Substanz eingeht, welche nicht oder nur schwach bei 254 nm absorbiert. Wichtig dabei ist jedoch, dass das ADPR **1** davon nicht affektiert ist und selbst bei einer sehr langen Bestrahlungsdauer von zehn Minuten unverändert aus dem Photolyseexperiment hervor geht.

6.1.5 Photolyse- und Hydrolyseexperimente an Molekülen erster Generation

Nach der erfolgreichen Synthese der acetylierten und bioreversibel-maskierten *caged* ADPR- und dADPR-Derivate **36 - 39** sollte anhand von Hydrolyse- und Photolyseexperimenten das Freisetzungsprinzip gezeigt werden, welches schematisch in **Abb. 6.11** dargestellt ist. Dieses besagt, dass die OB-Maske der Edukte **36 - 39** durch Esterasen gespalten wird und daraus die entsprechenden acetylierten *caged* ADPR-Derivate **64** und **65** sowie *caged* dADPR-Derivate **66** und **67** erhalten werden. Entsprechend der Ergebnisse von PAHNKE bezüglich der enzymatischen Hydrolyse von Acetylgruppen an ADPR ist zu erwarten,^[103] dass die Abspaltung der beiden Acetylgruppen an der terminalen Ribose der Derivate **64 - 67** zu den *caged* ADPR- und dADPR-Derivaten **68 - 71** über einen wesentlich längeren Zeitraum erfolgt. Nach einer idealerweise vollständigen Abspaltung sollte anschließend durch Photolyse der *caged* Verbindungen **68 - 71** freies ADPR **1** bzw. dADPR **2** erhalten werden. Sollte die Photolyse erfolgt sein, wenn hauptsächlich nur eine Acetylgruppe abgespalten worden ist, wird einfach acetyliertes ADPR bzw. dADPR erhalten. Es ist davon auszugehen, dass das gebildete einfach acetylierte Derivat, aufgrund von Acetylmigration unabhängig ob die 2"- oder 3"-Position acetyliert vorliegt, ebenfalls biologisch aktiv ist (siehe Kapitel 4.4).^[64] Ist jedoch keine für die Deacetylierung ausreichend lange Inkubationszeit gewählt worden, wird nach der Photolyse der zweifach acetylierten das zweifach acetylierte ADPR **72** bzw. dADPR **73**

erhalten. Es liegen keine Daten über die biologische Aktivität von beispielsweise Verbindung **72** vor, jedoch kann diese weiterhin von Enzymen zu OAADPR **4** oder ADPR **1** mit entsprechend antagonistischen Effekten umgesetzt werden. Dies entspräche jedoch erneut einer Enzym-abhängiger Freisetzung der Agonisten, die es durch die Verwendung von photolabilen Schutzgruppen zu vermeiden galt. Ebenso ist kein sofortiger agonistischer Effekt zu erwarten, wenn bereits vor der vollständigen Hydrolyse der OB-Maske photolysiert wurde und damit die zweifach acetylierten, OB-maskierten (d)ADPR-Derivate **74** und **75** erhalten werden. Diese Derivate können jedoch wieder durch Esterasen im Vergleich zur photolytischen Freisetzung langsam zu den entsprechenden Agonisten umgewandelt werden.

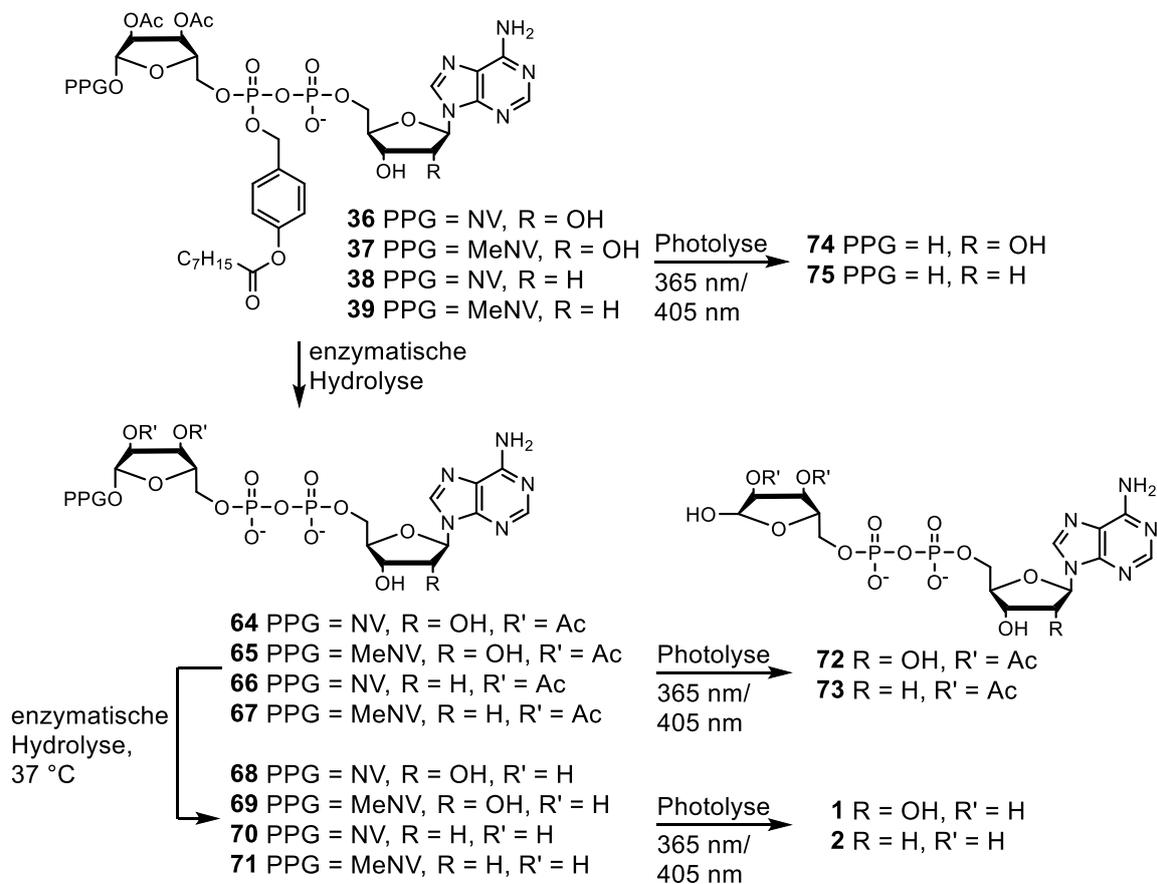


Abb. 6.11: Freisetzungsprinzip von ADPR **1** und dADPR **2** aus den acetylierten OB-maskierten *caged* ADPR- und dADPR-Derivaten **36** - **39** durch enzymatische Hydrolyse und anschließender Photolyse.

Zuvor wurde bereits erwähnt, dass die NV- und die MeNV-Gruppe eine für zelluläre Anwendungen vorteilhaftere Abspaltungswellenlänge von ca. 350 nm aufweisen. Ein signifikanter Unterschied ist jedoch die schnellere Freisetzung der Substrate bei Verwendung der MeNV-Gruppe, die aber in Bezug zur Synthese und Charakterisierung mit dem Nachteil eines neuen Stereozentrums in der benzylichen Position der Photogruppe einhergeht. Die vorzeitige Photolyse der maskierten *caged* ADPR-Verbindungen **36** und **37** gibt jedoch eine Aussage über die Freisetzungsgeschwindigkeiten der Photogruppen in den gewählten Modellexperimenten und hilft bei der Entscheidung, ob die Vorteile der MeNV-Gruppe die

Nachteile der synthetisch und analytisch anspruchsvolleren Herstellungsbedingungen überwiegen.

Für diesen Vergleich wurde das acetylierte OB-NV-ADPR-Derivat **36** unter den in Kapitel 7.1.6 beschriebenen Photolysebedingungen bei einer Wellenlänge von 365 nm photolysiert. Die Ergebnisse sind in **Abb. 6.12** dargestellt.

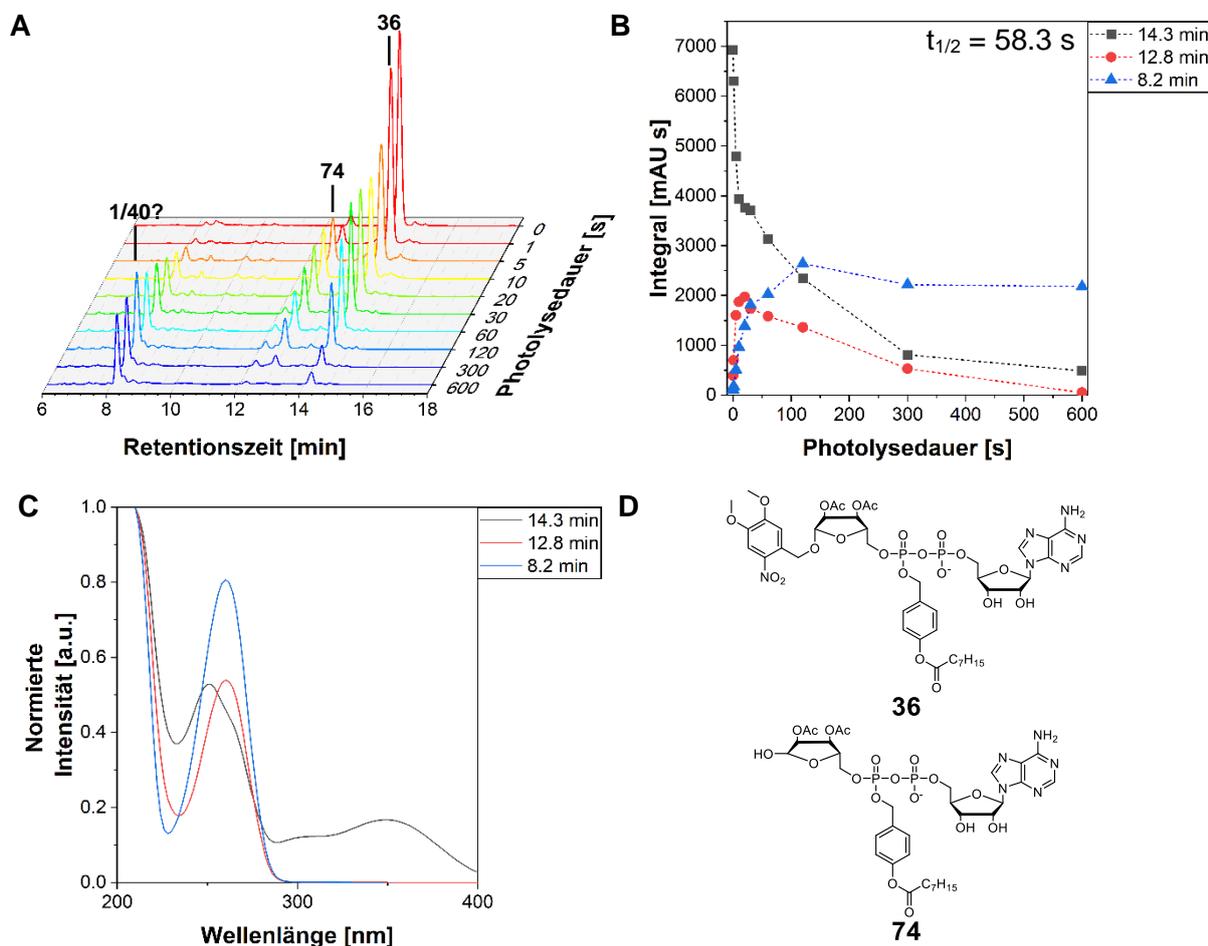


Abb. 6.12: Photolysereaktion bei 365 nm von acetyliertem OB-NV-ADPR **36**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der Photolysereaktion von Verbindung **36** zu Verbindung **74**. Die Entstehung von ADPR **1** oder AMP **40** kann nur vermutet werden. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 1**). **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Peaks zur Bestimmung der Halbwertszeit. **C:** UV-Absorptionsspektren der jeweiligen Peaks. **D:** Strukturformeln des für die Photolyse relevanten Edukts **36** und Produkts **74**.

Auf den ersten Blick ist in dem Wasserfalldiagramm (**Abb. 6.12 A**) eindeutig eine Abnahme des Eduktpeaks, welcher im UV-Spektrum die charakteristische Absorption der Photogruppe bei Wellenlängen > 300 nm aufweist (**Abb. 6.12 C**), bei einer Retentionszeit von 14.3 min über die gesamte Photolysedauer zu erkennen, was auf eine Photolyse deutet. Unter diesen Bedingungen weist das Edukt **36** eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = 58.3$ s auf und ist erst nach 600 s Bestrahlungsdauer fast vollständig abgebaut (**Abb. 6.12 B**). Gleichzeitig wird ein neuer Peak mit einer Retentionszeit von 12.8 min gebildet, welches aufgrund der Retentionszeitänderung durch die Lipophilieänderung und dem UV-Spektrum durch die charakteristische Absorption des Adenosins und dem Fehlen der Photogruppenabsorption

dem Photolyseprodukt **74** zugeordnet wird. Dieser Peak erreicht sein Maximum bei einer Photolysedauer von 20 s und nimmt anschließend wieder ab. Gleichzeitig wird noch ein dritter Peak mit einer Retentionszeit von 8.2 min gebildet, welcher aufgrund des charakteristischen nucleosidischen Absorptionsmusters und der Retentionszeit entweder ADPR **1** oder AMP **40** via Coinjektion zugeordnet werden könnte. Die Bildung dieses Peaks wird einer chemischen Hydrolyse des Photolyseprodukts **74** während der Reaktionszeit zugeordnet. Da das Abspaltprodukt der Photolyse 4,5-Dimethoxy-2-nitrosobenzaldehyd ebenfalls die eingestrahlte Strahlung absorbiert und diese in Form von thermischer Energie wieder abgibt, wird die Reaktionslösung über die Dauer des Experiments sehr warm und fördert damit eine chemische Hydrolyse des Produkts. Der Phosphattriester am β -Phosphat stellt die labilste Position gegenüber chemischer Hydrolyse dar und könnte als Folge dessen die OB-Gruppe oder AMP **40** abspalten. Zweites stellt aufgrund der Stabilität des entstehenden Monophosphats die bessere Abgangsgruppe dar und ist somit das wahrscheinlichere Hydrolyseprodukt. Eine genaue Bestätigung konnte in diesem Fall durch die ähnlichen Retentionszeiten des AMPs **40** und ADPRs **1** nicht erfolgen. Da diese Hydrolyse auf der Labilität des Phosphattriesters bei höheren Temperaturen zu schließen ist, sollte die Spaltung des Pyrophosphats nach erfolgter enzymatischer Abspaltung der OB-Gruppe nicht mehr erfolgen und die chemische Stabilität deutlich erhöht sein. Auf die genaue Stabilität der Phosphattriesterbindung in wässrigem Medium wird im Laufe des Kapitels weiter eingegangen.

Für die Photolyse des analogen MeNV-Derivats **74** bei 365 nm sind ähnliche Ergebnisse zu beobachten (siehe **Abb. 6.13**). Der Peak des Edukts weist eine Retentionszeit von 14.7 min und eine UV-Absorption mit charakteristischem Adenosin- und Photogruppenabsorptionsmuster auf (siehe **Abb. 6.13 C**). Nach Beginn der Photolyse nimmt der Eduktpeak mit zunehmender Dauer mit einer ermittelten Halbwertszeit von $t_{1/2} = 2.9$ s ab (siehe **Abb. 6.13 B**), bis dieses nach einer gesamten Bestrahlungsdauer von 20 s fast komplett photolysiert wurde. Auch in dieser Reaktion wird der Peak für das Photolyseprodukt **74** mit einer Retentionszeit von 12.8 min gebildet. Ebenso ist wieder die Entstehung des Peaks bei einer Retentionszeit von 8.2 min zu beobachten, der erneut entweder AMP **40** oder ADPR **1** durch Coinjektion zugeordnet werden könnte. Der zugrundeliegende Hydrolyseschritt wurde zuvor bei der Photolyse des NV-Derivats **36** bereits erläutert. Erwähnenswert sind zwei weitere Peaks mit Retentionszeiten von 9.5 min und 10.1 min, die nach der gesamten Photolysedauer von 20 s gebildet wurden. Die Betrachtung der normierten UV-Absorptionsspektren zeigte für beide Peaks keine für die erwarteten Produkte charakteristischen Absorptionsmuster und sind vermutlich auf auftretende Nebenreaktionen des 2-Nitrosoveratrylketons zurückzuführen, die entweder Photolyse- oder thermisch-induziert sein könnten. Ein abschließender Vergleich der Photolysegeschwindigkeiten des NV-Derivats **36** mit dem MeNV-Derivat **37** ergibt eine 20-fach schnellere Abspaltung der MeNV-Photogruppe. Dies stellt eine wichtige Erkenntnis für

die Synthese folgender *caged* ADPR-Derivate dar, in denen wegen der deutlich schnelleren Abspaltung trotz zusätzlichem Stereozentrum eine MeNV-Photogruppe verwendet werden sollte. Aus diesem Grund wird in den folgend vorgestellten Experimenten die Hydrolysestabilität exemplarisch am MeNV-ADPR-Derivat **37** dargestellt.

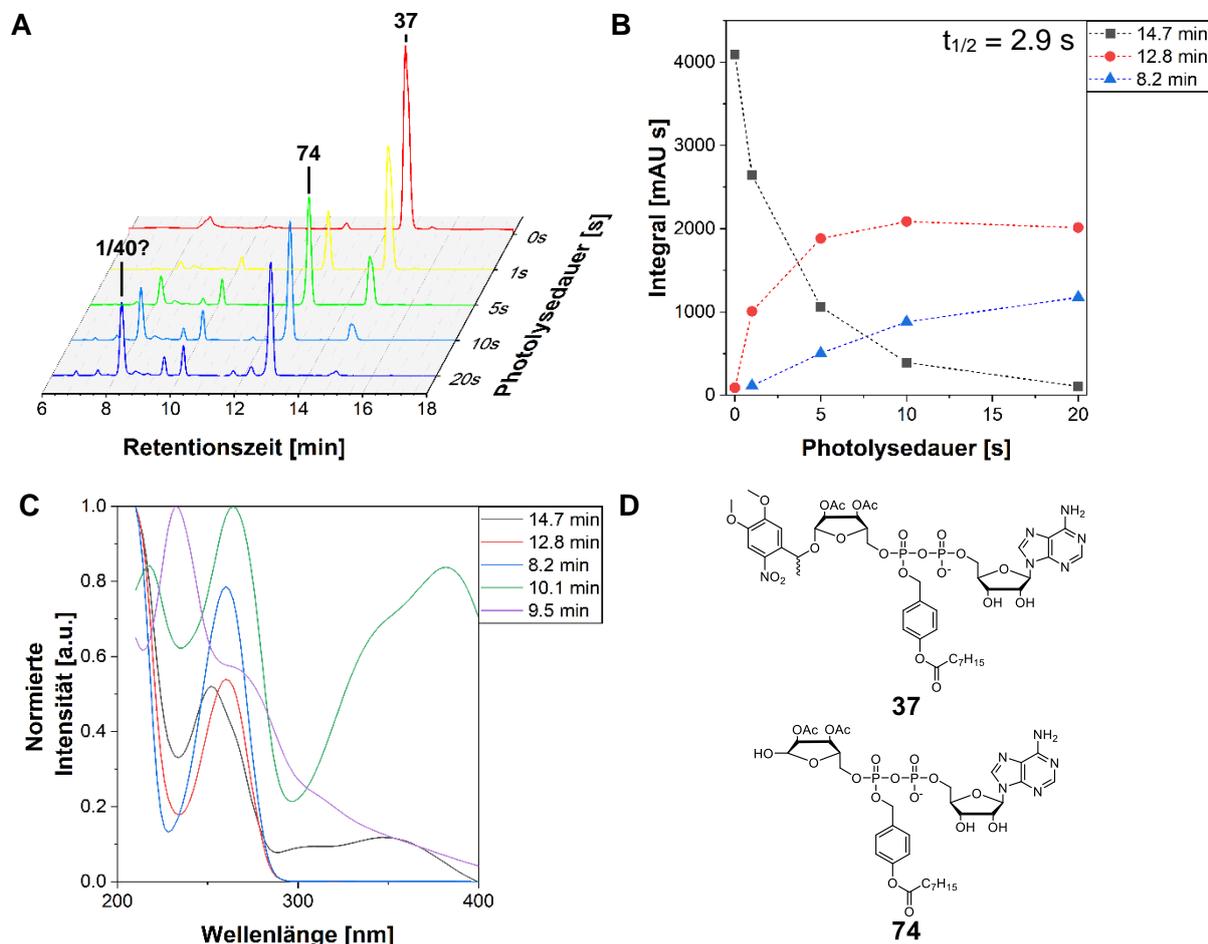


Abb. 6.13: Photolysereaktion bei 365 nm von acetyliertem OB-MeNV-ADPR **37**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der Photolysereaktion von Verbindung **37** zu Verbindung **74**. Die Entstehung von ADPR **1** oder AMP **40** kann nur vermutet werden. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 1**). **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Peaks zur Bestimmung der Halbwertszeit der Verbindung **37**. **C:** UV-Absorptionsspektren der jeweiligen Peaks. **D:** Strukturformeln des für die Photolyse relevanten Edukts **37** und Produkts **74**.

Zur Überprüfung des vorgestellten Freisetzungsprinzips für ADPR aus den acetylierten OB-maskierten *caged* (d)ADPR-Derivaten **36** - **39** (siehe **Abb. 6.11**) und der Bestimmung der Labilität des Pyrophosphats während der Photolyse nach der enzymatischen Abspaltung der OB-Maske wurde nach den in Kapitel 7.1.6 beschriebenen Bedingungen zur HPLC-Verfolgung der Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsexperimente das MeNV-Derivat **37** mit PLE als Modellenzym hydrolysiert und anschließend bei 365 nm photolysiert. Die Ergebnisse sind in **Abb. 6.14** dargestellt.

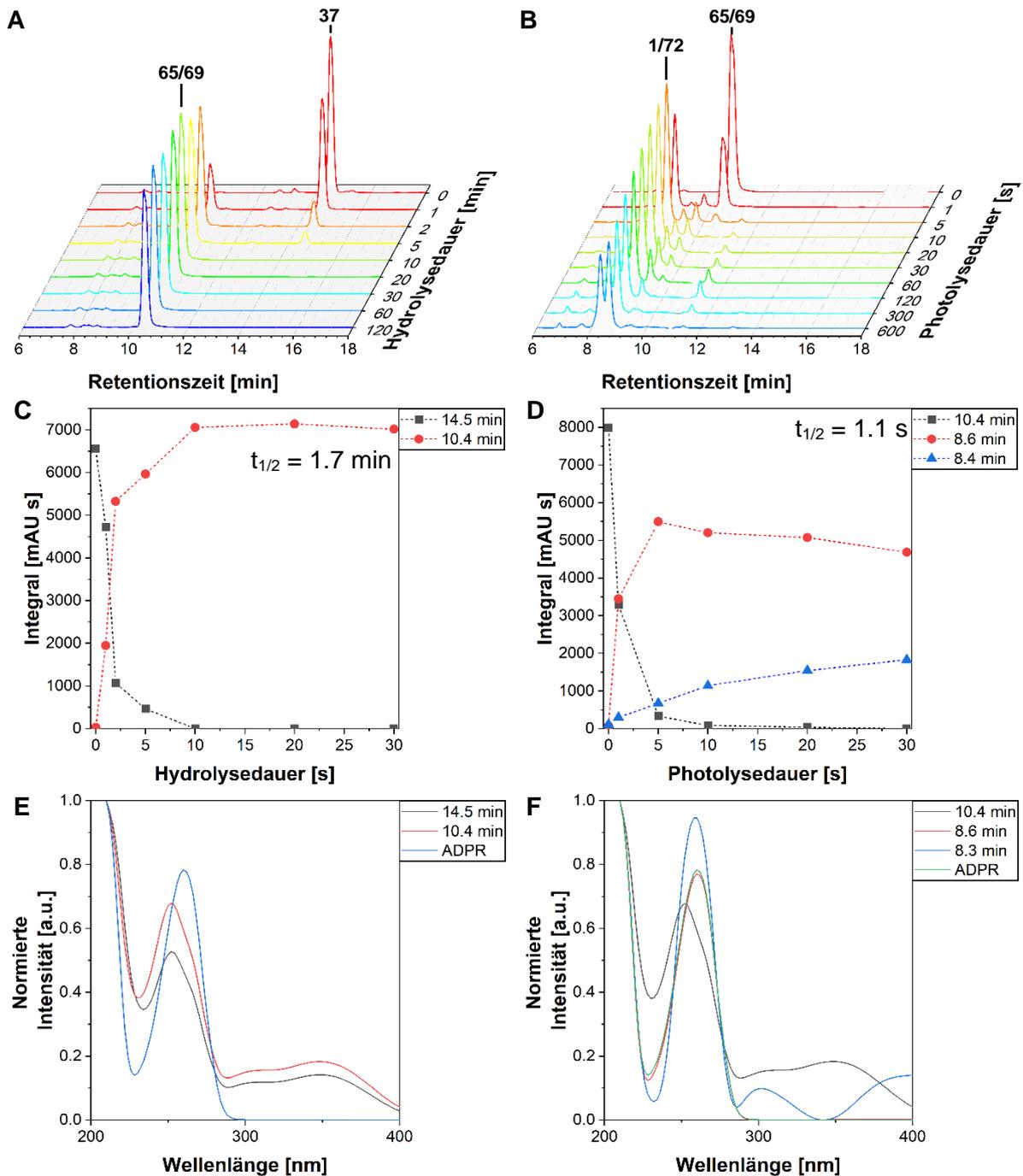


Abb. 6.14: Enzymatische Hydrolysereaktion von OB-MeNV-Derivat **37** mit PLE und anschließender Photolysereaktion (365 nm) des gebildeten Hydrolyseprodukts. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der Hydrolysereaktion von MeNV-ADPR **37** mit PLE zu den möglichen Hydrolyseprodukten **65** bzw. **69**. **B:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der Photolysereaktion der Hydrolyseprodukte **65** bzw. **69**. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 2**). **C:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Peaks zur Bestimmung der Halbwertszeit der Hydrolysereaktion. **D:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Peaks zur Bestimmung der Halbwertszeit der Photolysereaktion. **E:** Normierte UV-Absorptionsspektren der jeweiligen Peaks der Hydrolysereaktion sowie von ADPR als Referenz. **F:** Normierte UV-Absorptionsspektren der jeweiligen Peaks der Photolysereaktion sowie von ADPR als Referenz.

Aus dem Verlauf der Chromatogramme wird ersichtlich, dass das Edukt mit einer Retentionszeit von 14.5 min sich im Laufe des Hydrolyseexperiments mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 1.7$ min abbaut und eine weitere Verbindung bei einer Retentionszeit von 10.4 min

gebildet wird (siehe **Abb. 6.14 A** und **C**). Aus der Betrachtung der normierten UV-Absorptionsspektren der beiden Peaks wird deutlich, dass beide Peaks sowohl die charakteristische Adenosin- als auch die Photogruppenabsorption > 300 nm aufweisen (siehe **Abb. 6.14 E**). Dementsprechend weist der neu gebildete Peak weiterhin das MeNV-ADPR-Gerüst auf und unterscheidet sich maßgeblich durch geringere Lipophilie im Vergleich zum Eduktpeak, was auf eine erfolgreiche Abspaltung der lipophilen OB-Maske zum Produkt **65** deutet. Ob eine weitere Abspaltung der beiden Acetylgruppen innerhalb des Hydrolysezeitraums zum Produkt **69** stattfindet, wird nicht deutlich. In Betracht der Ergebnisse von PAHNKE bezüglich der Hydrolyse von der peracetylierten ADPR-Verbindung **14** ist nicht davon auszugehen, dass die beiden Acetylgruppen in dem Zeitraum abgespalten werden, dies kann jedoch nicht aus den erhaltenen Ergebnissen ausgeschlossen werden.^[103] Durch eine anschließende Photolyse bei 365 nm sollte die Freisetzung von ADPR **1** oder acetyliertem ADPR **72** aus der in der Hydrolyse entstandenen *caged* ADPR-Verbindung überprüft werden. Dabei wurde mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 1.1$ s eine Abnahme des gebildeten Hydrolyseprodukts mit einer Retentionszeit von 10.4 min zu einer neuen Verbindung mit einer Retentionszeit von 8.6 min beobachtet (siehe **Abb. 6.14 B** und **D**), bis das Hydrolyseprodukt zum Zeitpunkt nach 10 s Bestrahlungsdauer nicht mehr im Chromatogramm vorhanden war. Im Gegensatz zum Hydrolyseprodukt weist die neu gebildete Verbindung im UV-Absorptionsspektrum keine charakteristische Nitroabsorption der Photogruppe mehr auf, was auf eine erfolgreiche Abspaltung der Photogruppe schließen lässt. Durch einen Vergleich der Retentionszeiten mit ADPR **1** konnte nicht bestimmt werden, ob freies ADPR **1** oder das acetylierte Derivat **72** erhalten wurde. Eine Differenzierung zu AMP konnte durch Vergleich der Retentionszeiten ebenfalls nicht erfolgen. Erwähnenswert ist zudem auch die Bildung eines dritten Produkts bei 8.3 min, das sich mit zunehmender Bestrahlungsdauer aus dem Photolyseprodukt bei 8.6 min bildet. Ein erneuter Vergleich der UV-Absorptionsspektren zeigt in beiden Verbindungen die charakteristische Adenosin-Absorption, doch das neue Produkt besitzt zudem zwei neue lokale Absorptionsmaxima bei ca. 300 nm und 400 nm. Ob es sich dabei um zwei separate Verbindungen handelt, die im Chromatogramm überlagern, oder ob das Abspaltprodukt der Photogruppe mit zunehmender Bestrahlungsdauer mit dem freigesetzten Produkt bei 8.6 min reagiert, kann nicht aus den Chromatogrammen differenziert werden.

Zusammenfassend konnte durch das Modell der PLE-induzierten Hydrolyse erfolgreich die lipophile OB-Maske abgespalten und die Photogruppe des daraus entstandenen Produkts in einer folgenden Photolyse abgespalten werden. Inwiefern chemische oder enzymatische Hydrolyse der Acetylgruppen erfolgt, kann aus einer alleinstehenden HPLC-Analyse nicht bestimmt werden. Aus diesem Grund wurde sowohl die chemische Hydrolyse des acetylierten *caged* OB-ADPR-Derivats **37** in PBS-Puffer als auch eine Wiederholung des PLE-Hydrolyse-

Photolyse-Experiments via HPLC- und Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektrometrie (*liquid chromatography mass spectrometry*, LC-MS) Analyse untersucht.

Hierfür wurden die in Kapitel 7.1.6 aufgeführten Reaktionsbedingungen zur LC-MS-Verfolgung der PLE- und PBS-Hydrolyseexperimente angewendet. Um einen Überblick über die potentiell im wässrigen Medium auftretenden Nebenreaktionen des maskierten MeNV-ADPR-Produkts **37** zu erhalten, wurde dieses Produkt in PBS-Puffer gelöst und über vier Tage bei 37 °C inkubiert. Die Ergebnisse der HPLC- und LC-MS-Analysen sind in **Abb. 6.15** dargestellt. Die in diesem Kapitel durchgeführten LC-MS-Analysen variieren in Bezug auf Signalintensitäten, was nach Austausch der Säule auf Probleme mit der zuvor verwendeten Säule zurückgeführt werden konnte. Da die Experimente weiterhin qualitative Aussagen über die Hydrolysereaktionen geben, werden die Ergebnisse im Folgenden diskutiert.

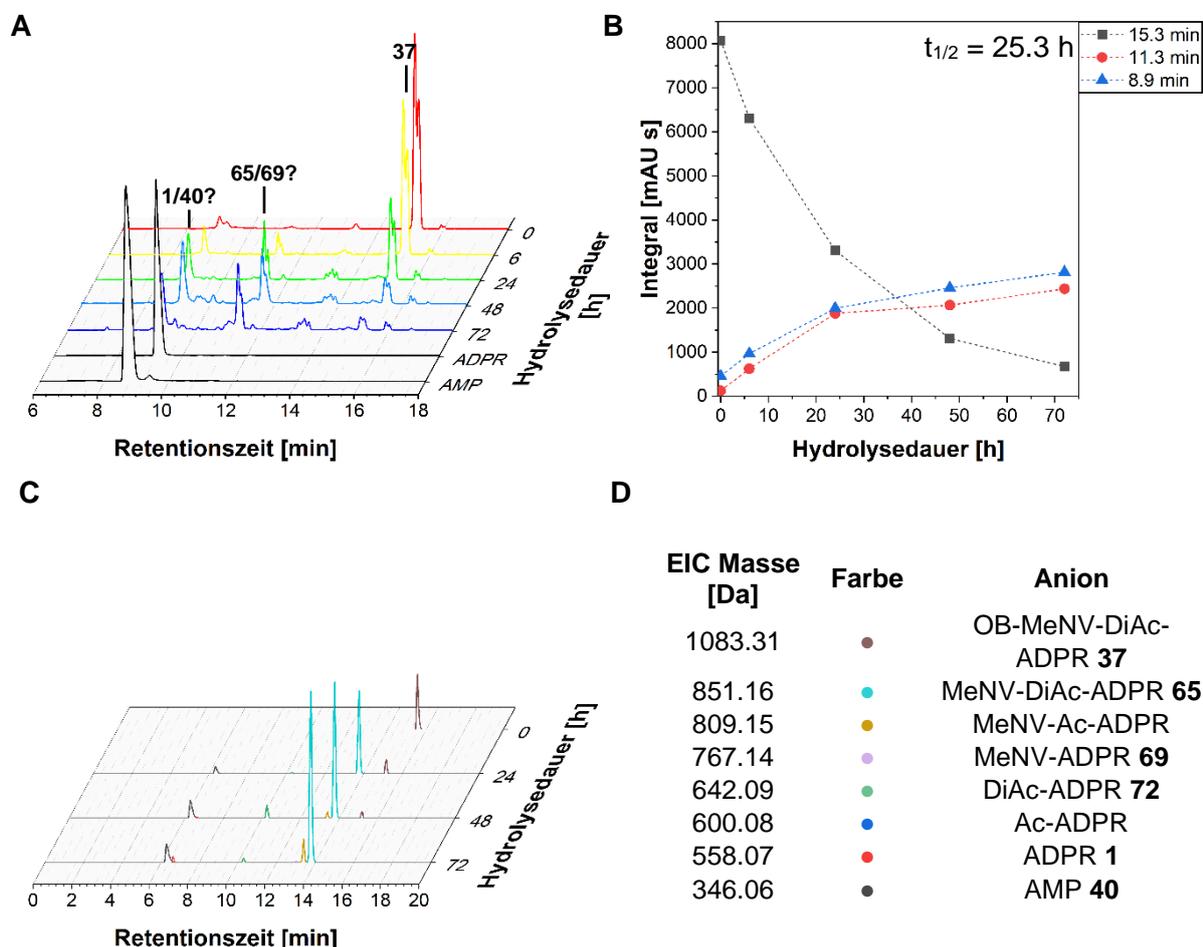


Abb. 6.15: Chemische Hydrolyse von ADPR-Derivat **37** in PBS-Puffer bei 37 °C. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der HPLC-Analyse sowie ADPR **1** und AMP **40** als Referenzen. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 3**). **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Peaks der HPLC-Analyse. **C:** Wasserfalldiagramm der LC-MS-Analyse. Zur vereinfachten Darstellung sind die extrahierten Ionenchromatogramme (*extracted ion chromatogram*, EIC) dargestellt und einzeln eingefärbt. **D:** Für die LC-MS-Analyse verwendete EIC-Werte, die entsprechende Farbkodierung und das zugehörige Molekül.

Beginnend bei der HPLC-Analyse (siehe **Abb. 6.15 A** und **B**) ist eine Abnahme des Eduktpeaks bei 15.3 min über den gesamten Zeitraum des Hydrolyseexperiments mit einer Halbwertszeit von 25.3 h zu beobachten, bis es nach vier Tagen Reaktionszeit fast komplett degradiert wurde. Zusätzlich ist die Bildung von zwei neuen Peaks zu erkennen, die beide vergleichbar schnell gebildet werden. Der erste neu gebildete Peak weist eine mit den demaskierten *caged* MeNV-ADPR-Derivaten **65** bzw. **69** vergleichbare Retentionszeit auf, der zweite Peak bei 8.9 min eine mit ADPR **1** oder AMP **40** vergleichbare Retentionszeit. Für die LC-MS-Analyse wurden die erhaltenen Ionenchromatogramme ausgewertet und die Ergebnisse in Form der extrahierten Ionenchromatogramme (*extracted ion chromatogram*, EIC) farblich mit den in **Abb. 6.15 D** aufgelisteten Werten der möglichen Hydrolyseprodukte in **Abb. 6.15 C** dargestellt. Die Analyse bestätigt, dass das Edukt **37** mit der Zeit zu dem zweifach acetylierten MeNV-ADPR **65** sowie durch Spaltung des Diphosphat-Rückgrats zu AMP **40** hydrolysiert wird. Eine Bildung des komplett deacetylierten MeNV-ADPRs **69** fand in dem betrachteten Hydrolysezeitraum nicht statt. Es kann jedoch stattdessen beobachtet werden, dass einfach acetyliertes MeNV-ADPR gebildet wird. Aus diesem Hydrolyseexperiment kann geschlussfolgert werden, dass bei der Photolyse des OB-MeNV-ADPRs **37** zum lipophil-maskierten ADPR-Derivat **74** durch eine längere Bestrahlung die thermisch-induzierte Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats am Phosphatrest wahrscheinlich hauptsächlich zu AMP **40** stattfindet, aber auch die Bildung von zweifach acetyliertem ADPR **72** möglich wäre.

Neben der PBS-Hydrolyse wurde auch die PLE-Hydrolyse erneut untersucht und via HPLC- und LC-MS verfolgt. Die Ergebnisse sind in **Abb. 6.16** dargestellt. Bei diesem Experiment wurde die Hydrolyse bis zu 24 h via HPLC verfolgt, doch es konnte durch die längere Reaktionszeit keine signifikante Änderung zu den zuvor beschriebenen PLE-Hydrolyseergebnissen beobachtet werden. Aus Gründen der Vollständigkeit sind auch die HPLC-Ergebnisse aufgeführt, die sich aber abgesehen von der längeren Hydrolysedauer mit denen der zuvor beschriebenen PLE-Hydrolyse deckten. Für die Halbwertszeit der Hydrolyse wurde diesmal ein Wert von $t_{1/2} = 3.5$ min und für die Photolyse ein Wert von $t_{1/2} = 1.3$ s bestimmt, weshalb im Mittel eine Hydrolyse- und Photolysehalbwertszeit von $t_{1/2} = 2.5$ min bzw. $t_{1/2} = 1.2$ s erhalten wird. Bei der Betrachtung der LC-MS-Analyse wird jedoch deutlich, dass bei der enzymatischen Hydrolyse hauptsächlich das zweifach acetylierte MeNV-Derivat **65** gebildet wird, welches selbst nach sechs Stunden Hydrolysedauer keine Umsetzung zum einfach acetylierten MeNV-ADPR erfuhr. Dementsprechend bewirkte eine folgende Photolyse der Reaktionslösung die Entstehung des zweifach acetylierten ADPR-Derivats **72**. Dieses Derivat **72** wurde selbst nach zehn Minuten Bestrahlung bei 365 nm durch die zusätzliche thermische Energie kaum chemisch zum einfach acetylierten ADPR-Derivat hydrolysiert. Es ist davon auszugehen, dass das verwendete PLE-Modellenzym nicht für die Abspaltung von Acetylgruppen geeignet ist und diese durch einen längeren Zeitraum eher durch eine

chemische Hydrolyse abgespalten werden. Aus diesem Grund sollte in einem weiteren Hydrolyseexperiment durch Verwendung von Zellextrakt überprüft werden, ob die Acetylgruppen schneller oder überhaupt abgespalten werden können.

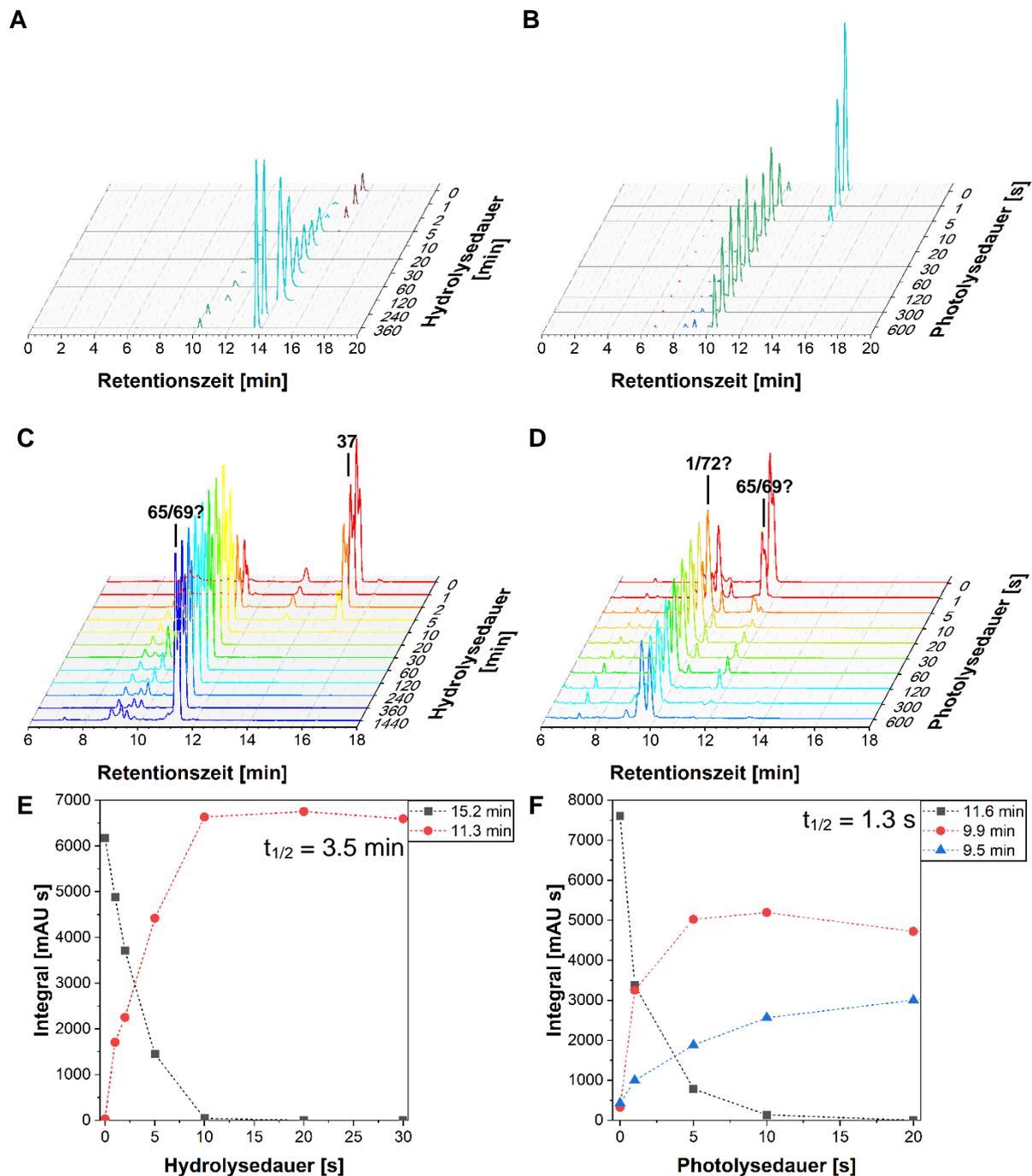


Abb. 6.16: Enzymatische Hydrolyse des OB-MeNV-Derivats **37** und anschließende Photolyse (365 nm) des Hydrolyseprodukts. **A:** Wasserfalldiagramm der EICs aus der LC-MS-Analyse der PLE-Hydrolyse. Die farbliche Kodierung ist analog zu der in **Abb. 6.15 D** gezeigten Tabelle. **B:** Wasserfalldiagramm der EICs aus der LC-MS-Analyse der Photolyse. Die farbliche Kodierung ist analog zu der in **Abb. 6.15 D** gezeigten Tabelle. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der HPLC-Analyse der PLE-Hydrolyse. **D:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der HPLC-Analyse der Photolyse. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 3** und **Anhang 4**). **E:** Zeitlicher Verlauf der aus der HPLC-Analyse erhaltenen Integrale der jeweiligen Peaks des Hydrolyseexperimentes. **F:** Zeitlicher Verlauf der aus der HPLC-Analyse erhaltenen Integrale der jeweiligen Peaks des Photolyseexperimentes.

Für die Untersuchung der Abspaltung der lipophilen OB-Maskierung und der Acetylgruppen des zweifach acetylierten OB-maskierten MeNV-ADPRs **37** wurden Zellextrakte der humanen T-Lymphozyten-Zelllinie CEM/0 verwendet, welche von BALZARINI und SCHOLS von der Katholieke Universität Leuven (Belgien) zur Verfügung gestellt und bereits von GOLLNEST zur Untersuchung der Stabilitäten von AB-Maskierungen im Zellmedium verwendet wurden.^[121] Die Durchführung der Zellextrakthydrolyse erfolgte nach der in Kapitel 7.1.6 beschriebenen Vorschrift für die HPLC- und LC-MS-Verfolgung der CEM/0-Hydrolyse und die Ergebnisse sind in **Abb. 6.17** dargestellt.

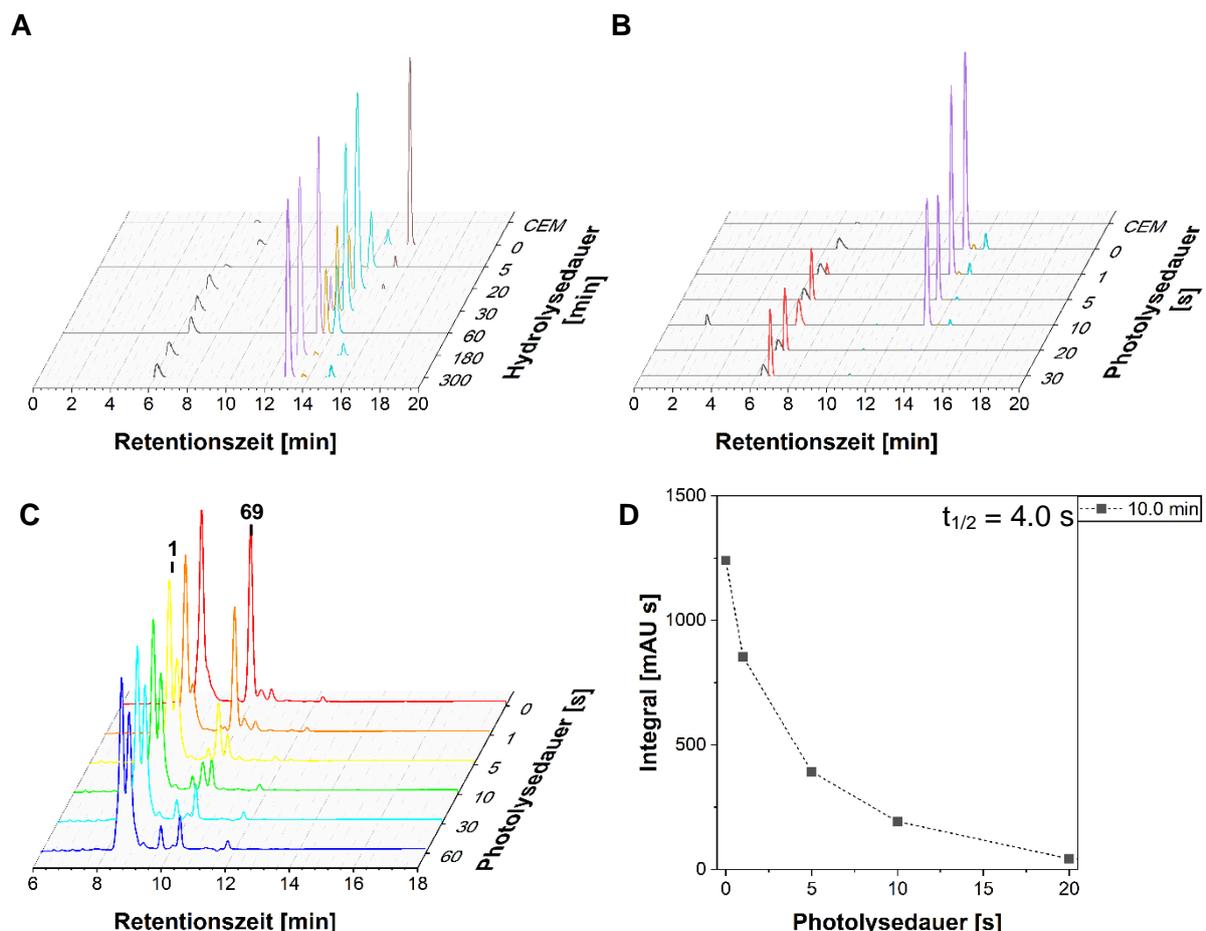


Abb. 6.17: CEM/0-Zellextrakthydrolyse mit anschließender Photolyse (365 nm) der Verbindung **37** mit Reaktionsverfolgung via HPLC und LC-MS. **A:** Wasserfalldiagramm der EICs aus der LC-MS-Analyse der CEM/0-Hydrolyse. Die farbliche Kodierung ist analog zu der in **Abb. 6.15 D** gezeigten Tabelle. **B:** Wasserfalldiagramm der EICs aus der LC-MS-Analyse der Photolyse. Die farbliche Kodierung ist analog zu der in **Abb. 6.15 D** gezeigten Tabelle. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der HPLC-Analyse der Photolyse. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 4**). **D:** Zeitlicher Verlauf der aus der HPLC-Analyse erhaltenen Integrale der jeweiligen Peaks des Photolyseexperimentes.

Bei der Betrachtung der LC-MS-Analyseergebnisse des Hydrolyseexperimentes wird deutlich, dass das OB-maskierte Derivat **37** bereits nach einer Inkubationszeit von 5 min fast vollständig zum zweifach acetylierten MeNV-ADPR **65** demaskiert wurde. Gleichzeitig erfolgte bereits die Hydrolyse einer Acetylgruppe der Verbindung **65** zum einfach acetylierten MeNV-ADPR-Derivat. Der Peak der demaskierten Verbindung **65** erreichte nach einer Inkubationszeit von 20 min ein Maximum und die Verbindung **65** lag anschließend nach 180 min fast vollständig

degradiert vor. Dies galt auch für die einfach acetylierte MeNV-ADPR-Verbindung, welche nach 180 min Inkubationszeit fast vollständig zum unmaskierten MeNV-ADPR **69** umgesetzt wurde. Eine längere Inkubation der Zwischenstufen von bis zu 300 min zeigte keinen weiteren Umsatz der Verbindungen mehr, weshalb daraufhin die Hydrolyse abgebrochen wurde. Es wird vermutet, dass die Enzyme im Zellextrakt innerhalb des Inkubationszeitraums an Aktivität verloren haben oder auch zelluläre Proteasen im Extrakt die nötigen Esterasen verdaut haben. Es konnte jedoch erfolgreich eine Hydrolyse der OB-Maskierung als auch der Acetylgruppen der Ausgangsverbindung **37** zum freien MeNV-ADPR **69** gezeigt werden. Zur Kontrolle wurde die Reaktionslösung nach der Hydrolyse ebenfalls bei 365 nm photolysiert und es konnte via LC-MS-Verfolgung die Bildung von freiem ADPR **1** gezeigt werden. Durch die Betrachtung der HPLC-Verfolgung der Photolyse konnte ebenfalls für die Abnahme des MeNV-ADPR **65** Peaks bei einer Retentionszeit von 10.0 min eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = 4.0$ s ermittelt werden, welche deutlich größer als der zuvor bestimmte Mittelwert der Photolysehalbwertszeit von zweifach acetyliertem MeNV-ADPR **65** nach PLE-Hydrolyse von $t_{1/2} = 1.2$ s ist. Da die Photolyse mechanistisch unabhängig von den Acetylgruppen erfolgt, war ein ähnlicher Wert erwartet worden. Da die verwendeten CEM/0-Zellextrakte Suspensionen waren, wies die Reaktionslösung zur Photolyse eine deutliche Trübung auf. Diese Trübung verhinderte vermutlich eine effiziente Bestrahlung der gesamten Reaktionslösung, was zu diesem Unterschied der Halbwertszeiten führen kann. Nichtsdestotrotz ermöglichte selbst eine Photolysehalbwertszeit von 4.0 s weiterhin eine deutlich schnellere Freisetzung von Substraten als Freisetzungen durch Enzymhydrolyse.

Aus diesen Ergebnissen kann das in **Abb. 6.11** gezeigte Freisetzungsprinzip der acetylierten OB-maskierten MeNV-ADPR-Derivate **36 - 39** bestätigt werden. Durch den Einsatz der Zellextrakte konnte auch gezeigt werden, dass die Abspaltung der Acetylgruppen wesentlich schneller als beim von PAHNKE verwendeten PLE-Hydrolysemodell erfolgt.^[103] Es gilt jedoch eine genaue Bestimmung der Freisetzungsgeschwindigkeit von freiem ADPR **1** aus MeNV-ADPR **69** durch eine Photolyse ohne externe Störfaktoren, wie der Trübung durch die CEM/0-Zellextrakte, durchzuführen. Hierfür ist die Synthese von MeNV-ADPR **69** und MeNV-dADPR **71** erforderlich, die anschließend in Photolyseexperimenten untersucht werden können. Ebenso können diese Verbindungen als Vergleichssubstanzen verwendet werden. Hierfür wäre ein Vergleich der zellulären Aufnahme der beiden Verbindungen **69** und **71** mit der Aufnahmeeffizienz der vollständig maskierten Derivate **36 - 39** interessant. Ebenso wäre ein Vergleich der Photolyseeffizienz nach aktiver Applikation der *caged* (d)ADPR-Derivate **69** und **71** ein hilfreicher Ansatz, um die Freisetzungseigenschaften der Zielverbindungen **36 - 39** genauer bestimmen zu können.

6.2 Synthese und Photolyse von MeNV-ADPR und -dADPR

Für die Synthese der *caged* (d)ADPR-Derivate **68** - **71** sind verschiedene Ansätze möglich. In **Abb. 6.18** sind drei mögliche Synthesen dargestellt, die alle auf der Reaktion von Ribose-Bausteinen mit kommerziell erhältlichem AMP **40** bzw. dAMP **41** oder Adenosindiphosphat (ADP) basieren.

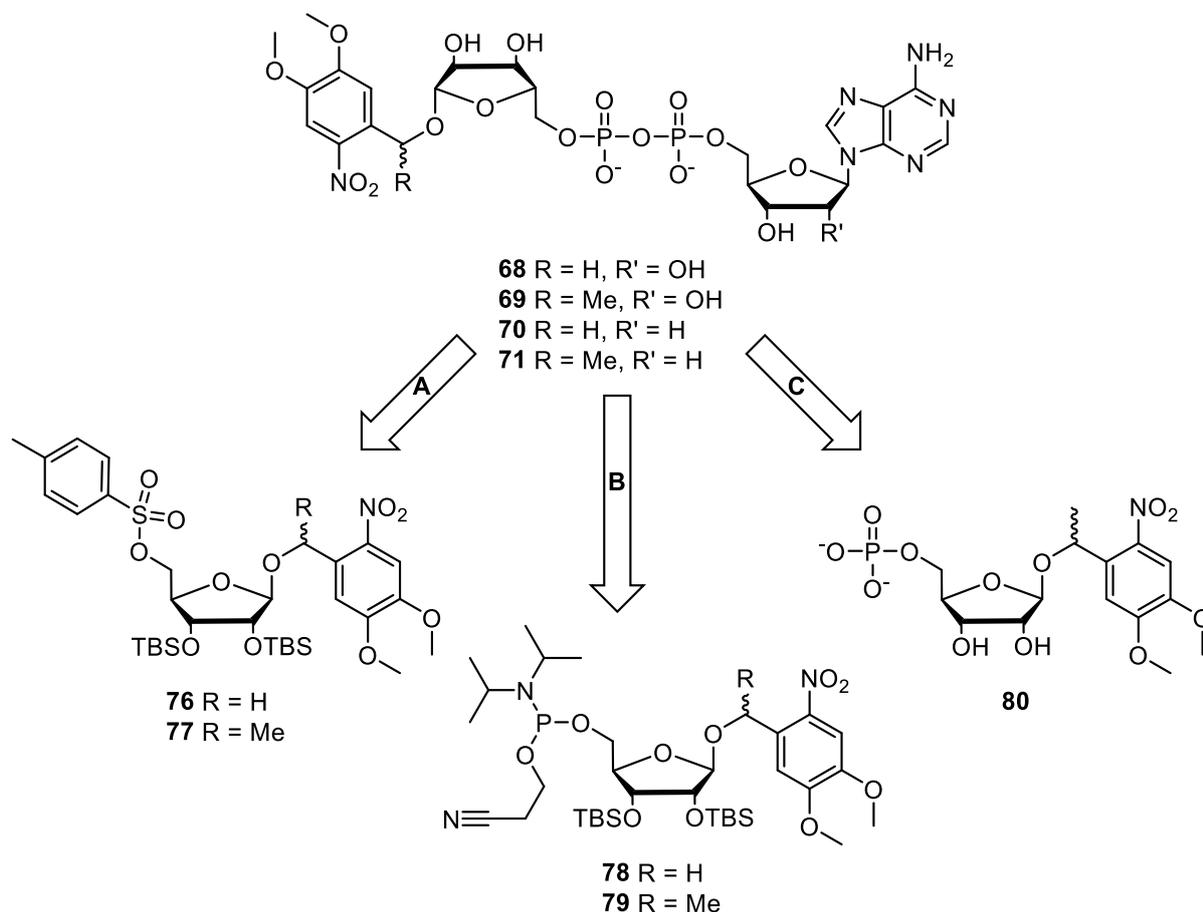


Abb. 6.18: Drei retrosynthetische Ansätze zur Synthese von *caged* ADPR- und dADPR-Derivaten **68** - **71** durch Kupplung mit (d)AMP **40** bzw. **41** oder ADP.

Die erste mögliche Kupplung (**A**) umfasst die Reaktion von ADP mit den *caged* Ribosen **76** oder **77**, welche durch eine 5-Tosylgruppe eine gute Abgangsgruppe für eine nucleophile Substitution durch das terminale Phosphat des ADPs aufweisen. Eine weitere Reaktion (**B**) beinhaltet die Verwendung der 2-Cyanoethylphosphoramidite **78** und **79** und den jeweiligen Monophosphaten **40** bzw. **41** mit anschließender Abspaltung der Cyanoethyl-Gruppe. Dieser Ansatz ähnelt der in Kapitel 6.1.3 beschriebenen Kupplung der Ribose-Bausteine **45** und **46** zu den OB-maskierten *caged* ADPR-Derivaten **36** - **39** über ein asymmetrisches Amidit und stellt damit einen vielversprechenden Ansatz dar. Außerdem ist die Kupplung (**C**) von AMP **40** oder dAMP **41** mit dem *caged* Ribosemonophosphat **80** vielversprechend, die eine durch vorhergehende Aktivierung einer Monophosphatgruppe ermöglicht wird.

6.2.1 Syntheseversuch von *caged* ADPR via Tosylverbindungen

Die direkte Kupplung von ADP mit einem tosylierten *caged* Ribose-Baustein wurde zuerst verfolgt, da dieses Kupplungsprinzip bereits für die Synthese von ADPR-ähnlichen Molekülen Anwendung fand, wie bereits LUO *et al.* für die Synthese potentieller TRPM2 Antagonisten basierend auf ADPR-Analoga zeigen konnten.^[127] Hierfür musste zuerst die Tosylgruppe an der 5-Position der *caged* Ribose-Derivate **45** und **46** eingeführt werden, was durch eine Folge verschiedener Schutzgruppenreaktionen durchgeführt wurde (siehe **Abb. 6.19**). Es wurden zwei Syntheserouten zur Herstellung der Vorläuferverbindungen **81** und **82** der Tosylierungsreaktion untersucht.

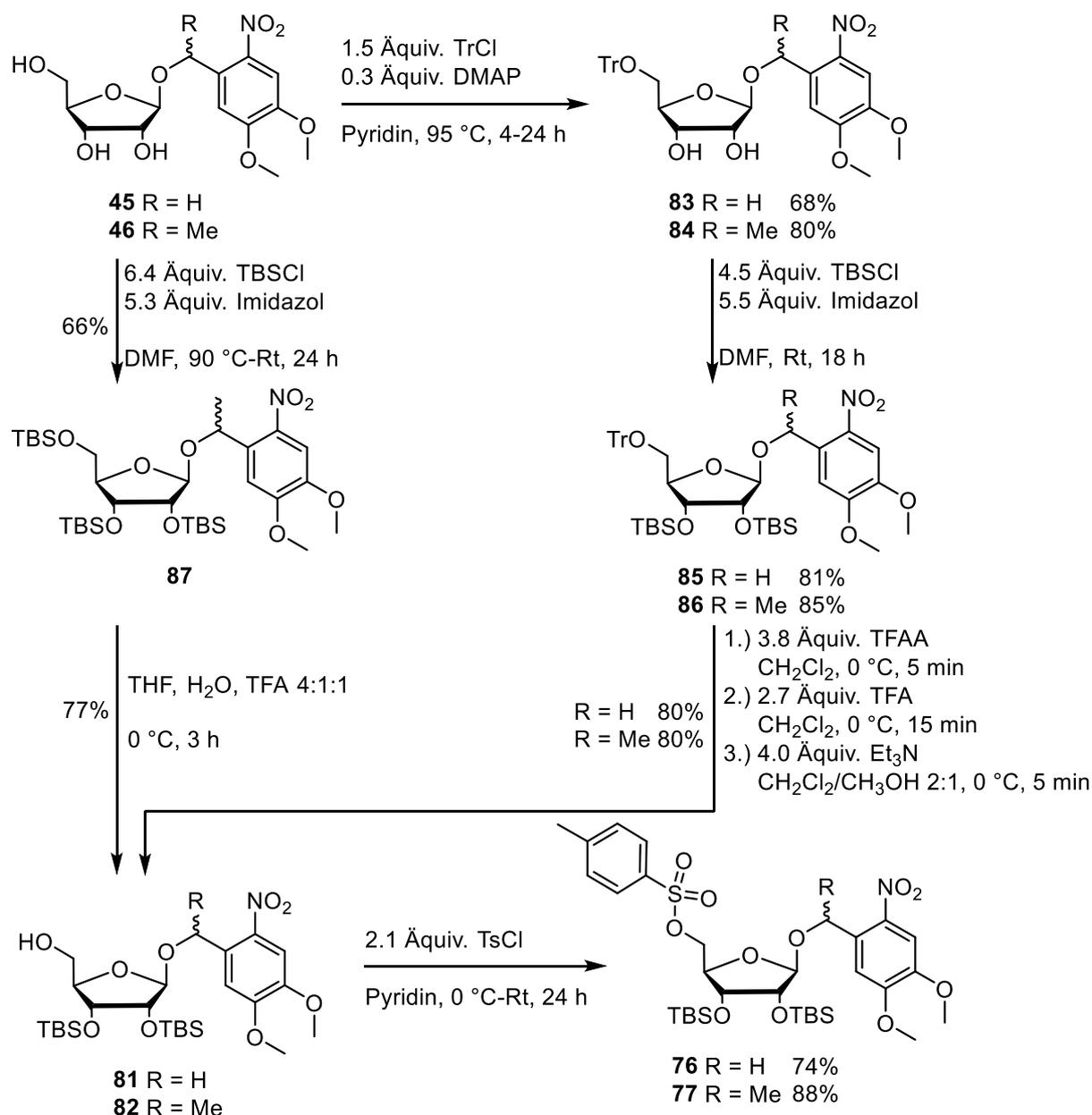


Abb. 6.19: Syntheseroute zur Herstellung der tosylierten *caged* Ribose-Verbindungen **76** und **77** ausgehend von den bereits synthetisierten NV- und MeNV-Ribose-Bausteinen **45** und **46**. Für das MeNV-Derivat **82** wurde außerdem eine weitere Syntheseroute über die Verbindung **87** verfolgt.

Für die erste Syntheseroute wurden in Anlehnung zur Vorschrift von DROWN *et al.* bzw. KOCK jeweils NV- und MeNV-Ribose **45** bzw. **46** mit Tritylchlorid unter Katalyse von *N,N*-Dimethylaminopyridin (DMAP) zu den Verbindungen **83** und **84** trityliert.^[128,129] Obwohl bei beiden Reaktionen ein vollständiger Umsatz während der Reaktion beobachtet werden konnte, wurde für das NV-Derivat **83** mit 68% Ausbeute eine etwas geringere Ausbeute als beim MeNV-Derivat **84** erzielt, welches mit einer Ausbeute von 80% erhalten werden konnte. Das NV-Derivat **83** benötigte jedoch eine Reaktionszeit von 24 h statt der 4 h für das MeNV-Derivat **84**. Eine längere Reaktionszeit erhöht auch die Wahrscheinlichkeit der Photolyse durch Tageslicht, was aufgrund der photolabilen Eigenschaften der Verbindungen auftreten kann. Es liegt demnach die Vermutung nahe, dass bei der Reaktion, Aufarbeitung oder Reinigung ein höherer Anteil des Produkts **83** durch Tageslicht photolysiert und somit die allgemeine Ausbeute vermindert wurde. Nach der Tritylierung wurden ebenfalls in Anlehnung an die Vorschrift von DROWN *et al.* die 2- und 3-Position der Verbindungen **83** und **84** silyliert.^[128] Dafür wurden die tritylierten Edukte **83** und **84** in DMF gelöst und mit Imidazol und *tert*-Butyldimethylsilylchlorid versetzt und nach der Aufarbeitung und der Reinigung die vollständig geschützten *caged* Ribose-Derivate **85** und **86** mit Ausbeuten von 81% für das NV-Derivat **85** und 85% für das MeNV-Derivat **86** erhalten. Die Reaktionsbedingungen mit Imidazol in DMF sind in diesem Fall essentiell, da für das NV-Derivat **83** eine Silylierung nach den in Kapitel 6.1.2 beschriebenen Bedingungen mit dem Silylierungsreagenz in Pyridin nach zwölf Stunden Reaktionszeit bei 60 °C nur zu 11% das vollständig geschützte Derivat **85** erhalten werden konnte. Hauptsächlich wurden die monosilylierten Produkte in 31% bzw. 33% erhalten, was auf eine erhebliche sterische Hinderung der zweiten Silylierungsreaktion schließen lässt und durch die reaktiveren Bedingungen in DMF ausgeglichen werden kann. Im nächsten Schritt wurde durch die Labilität der Tritylgruppe gegenüber aciden Bedingungen die 5-Position entschützt, indem die vollständig geschützten Derivate **85** und **86** in Anlehnung zur Vorschrift von DROWN *et al.* erst mit Trifluoressigsäureanhydrid (*trifluoroacetic anhydride*, TFAA) und anschließend mit Trifluoressigsäure (*trifluoroacetic acid*, TFA) versetzt wurden.^[128] Durch die Zugabe von TFA wird die Tritylgruppe als Tritylkation abgespalten. Eine anschließende Trifluoracetylierung der freien 5-Hydroxygruppe durch das TFAA verhindert eine erneute Tritylierung durch das noch vorhandene Tritylkation in der Reaktionslösung. Durch die Zugabe von Triethylamin in Methanol wird der Trifluoressigsäureester basisch gespalten und das detritylierte Produkt **81** bzw. **82** erhalten. Eine dünnschichtchromatographische Verfolgung während der Abspaltung ließ den Umsatz nicht eindeutig zu erkennen, der demnach erst nach der anschließenden wässrigen Aufarbeitung genauer bestimmt werden konnte. Aus diesem Grund wird empfohlen, den Umsatz bei dieser Reaktion nach der Aufarbeitung erneut zu überprüfen, da der Abspaltungsschritt der Trifluoracetylgruppe nicht immer nach der vorgeschriebenen Zeit vollständig stattfand. Beide Produkte **81** und **82**

Zuerst wurde die Kupplung des NV-Tosylats **76** mit Tetrabutylammonium-ADP in Acetonitril untersucht, welches zuvor durch Titration von kommerziell erhältlichem protonierten ADP mit Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung (40% in Wasser) mit anschließender Reinigung via automatisierter RP-Säulenchromatographie hergestellt wurde. Die Reaktion wurde in regelmäßigen Abständen dünnschichtchromatographisch auf den Umsatz des Edukts **76** überprüft, jedoch konnte das NV-Derivat **76** nach einer Reaktionsdauer von insgesamt vier Tagen noch beobachtet werden, weshalb die Reaktion an diesem Punkt abgebrochen und RP-säulenchromatographisch fraktioniert wurde. Es wurden nur 13% des Edukts reisoliert, jedoch konnte das Kupplungsprodukt **88** in keiner der erhaltenen Fraktionen beobachtet werden. Für den zweiten Syntheseversuch des *caged* TBS-ADPRs **89** aus dem MeNV-Tosylat **77** wurde in Anlehnung an die Vorschrift von LUO *et al.* das Tetrabutylammonium-Salz des ADP direkt vor der Kupplungsreaktion ohne weitere Reinigung hergestellt,^[127] indem das vorgelegte ADP in DMF mit Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung versetzt wurde, bis das ADP vollständig gelöst vorlag. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das ADP-Salz im Vakuum getrocknet, erneut in Acetonitril gelöst und mit dem Tosylat **77** versetzt. Nach dem vollständigen Umsatz wurde der Rückstand der Reaktion via automatisierter RP-Säulenchromatographie gereinigt, doch es konnte kein Produkt erhalten werden. Es wird vermutet, dass in diesem Fall ein Überschuss an Tetrabutylammoniumhydroxid vorlag, der mit dem Tosylat **77** reagiert hat. DAVISSON *et al.* beschreiben, dass für die Nucleosiddiphosphat-Synthese aus einem 5'-Tosylnucleosid und Tetrabutylammoniumpyrophosphat das Phosphorylierungsreagenz im Überschuss mit einer Gesamtkonzentration über 1 M in der Reaktionslösung vorliegen muss, um einen vollständigen Umsatz in angemessener Reaktionszeit beobachten zu können.^[130] In den zuvor beschriebenen Reaktionen konnte aufgrund der geringen Löslichkeit des ADP-Salzes die Reaktion jedoch nur mit einer ADP-Konzentration von 0.1 M durchgeführt werden und somit die Verdünnung eventuell zu groß für eine erfolgreiche Reaktion war. Aus den Ergebnissen wird geschlossen, dass die Synthese von freiem *caged* ADPR **68** - **71** nicht über die Kupplung eines Tosylats mit ADP erfolgen kann.

6.2.2 Synthese von *caged* dADPR via Cyanoethylphosphoramidit

Da die Synthese der acetylierten OB-maskierten *caged* ADPR-Derivate **36** - **39** erfolgreich durchgeführt werden konnte, indem ein OB-maskiertes asymmetrisches Phosphoramidit mit dem entsprechenden Monophosphat gekuppelt wurde, liegt es nahe, eine ähnliche Synthese für die *caged* ADPR-Derivate **68** - **71** zu verwenden. Hierfür bietet sich die Verwendung von Cyanoethylphosphoramiditen an, die durch die Cyanoethylgruppe eine Schutzgruppe beinhalten, die durch nicht-nucleophile Basen abgespalten werden kann.

Ausgehend von der 2,3-silylierten *caged* Ribose-Verbindung **81** bzw. **82** wurde das Cyanoethylphosphoramidit **78** bzw. **79** nach den Vorschriften von TRZUPEK *et al.* und SHAH *et al.*, unter Verwendung von 2,4,6-Collidin als sterische Base, Methylimidazol und 2-Cyanoethylchlorphosphoramidit, hergestellt (siehe **Abb. 6.21**).^[122,131]

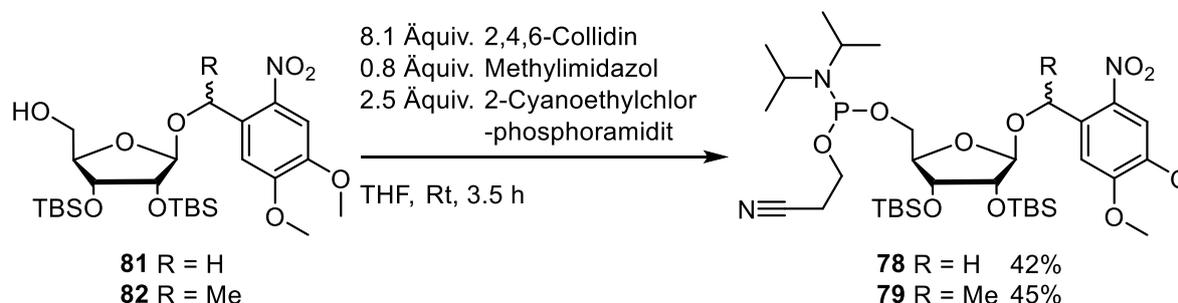


Abb. 6.21: Reaktionsbedingungen zur Synthese der 2-Cyanoethylphosphoramidit-Derivate **78** und **79** aus den silylierten *caged* Ribose-Derivaten **81** und **82**.

Im Gegensatz zu den Synthesen der zuvor hergestellten Amidite darf der Zusatz von Triethylamin bei der säulenchromatographischen Reinigung nicht zu groß ausfallen, da sonst die Cyanoethylgruppe abgespalten wird. Jedoch wird es auch nicht empfohlen, ohne Zusatz von Base säulenchromatographisch zu reinigen, da sonst die Amidit-Gruppe reagieren kann. In den beiden durchgeführten Reaktionen wurde das Rohprodukt mit einem Zusatz von 0.05% - 0.1% Triethylamin gereinigt. Dies stellte jedoch keine optimale Balance zwischen aciden und basischen Bedingungen zum Erhalt der Cyanoethylphosphoramidit-Struktur dar, da ein erheblicher Anteil des Rohprodukts, welches aufgrund der NV- bzw. MeNV-Gruppe charakteristisch gelb gefärbt ist, nach dem Auftragen auf die stationäre Phase keine Elution aufwies und auf der stationären Phase zurückblieb. Dies könnte für eine Oxidation des Phosphoratoms oder die Spaltung der Cyanoethyl- oder Amidit-Gruppe sprechen. Aufgrund dessen wurde das asymmetrische Amidit **78** als Gemisch von zwei Diastereomeren mit einer Ausbeute von 42% sowie das analoge MeNV-Derivat **79** als Gemisch von vier Diastereomeren mit einer Ausbeute von 45% erhalten. Die in **Abb. 6.22** dargestellten ³¹P-NMR-Spektren der Verbindungen **78** und **79** zeigen die charakteristische Verschiebung der Cyanoethylphosphoramiditgruppe bei ungefähr 148 ppm sowie das Verhältnis der Diastereomere, welches für das NV-Derivat 1.7:1.0 und für das MeNV-Derivat 1.9:1.5:1.2:1.0 beträgt.

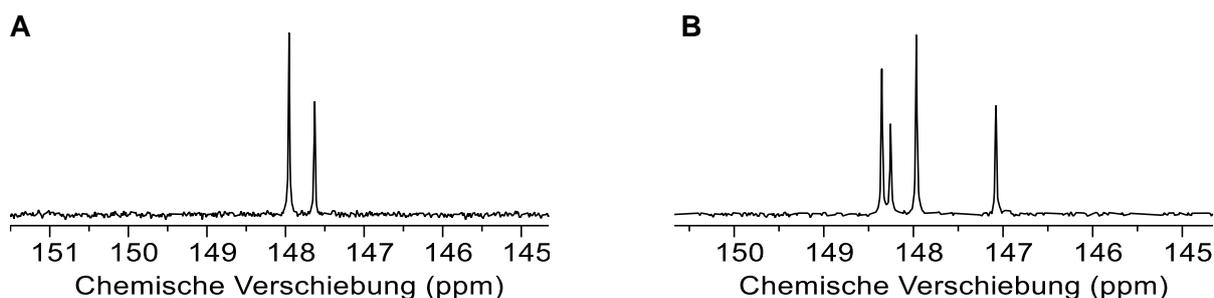


Abb. 6.22: Ausschnitte der ³¹P-NMR-Spektren der Phosphoramidite: **A:** NV-Derivat **78** (400 MHz, CDCl₃, 300 K), **B:** MeNV-Derivat **79** (400 MHz, CDCl₃, 300 K).

Anschließend an die zuvor beschriebene Synthese wurde die Kupplung der Cyanoethylphosphoramidite mit einem Monophosphat untersucht. Für das Monophosphat sollte zuerst das Triethylammonium-Salz von dAMP **41** verwendet werden, da für die in Kapitel 6.1.3 beschriebenen Kupplungen des dAMPs **41** mit den Phosphoramiditen **41** und **42** leicht höhere Ausbeuten erzielt werden konnten. Die Kupplung des NV-Amidits **78** und dAMP **41** erfolgte erneut durch Zugabe des Aktivators Pyridiniumtrifluoacetat mit anschließender Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid (siehe **Abb. 6.23**).

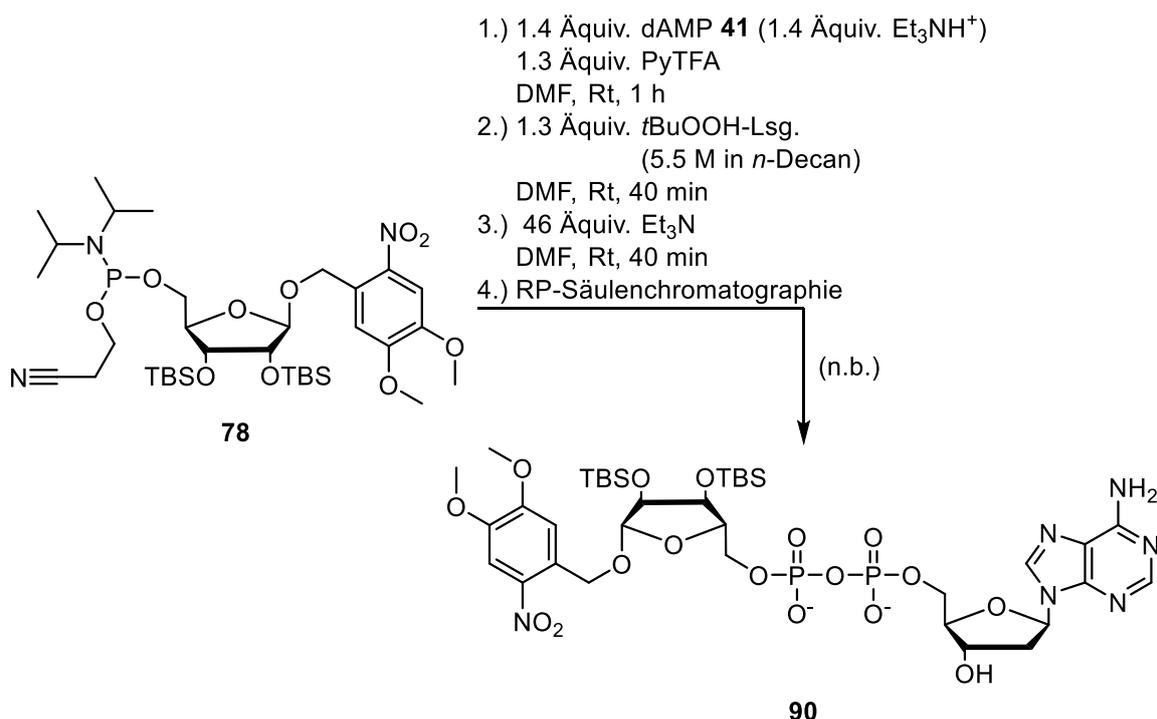


Abb. 6.23: Umsetzung des Cyanoethylphosphoramidits **78** zum *caged* TBS-dADPR **90**.

Daran angeschlossen wurde Triethylamin zugegeben, damit direkt nach der Kupplung die Abspaltung der Cyanoethylgruppe erfolgt. Von einer verunreinigten Fraktion wurden nach der automatisierten RP-säulenchromatographischen Reinigung NMR-Spektren gemessen, die die Entstehung des Produkts **90**, unter anderem durch die charakteristische Verschiebung der Signale des neu gebildeten Pyrophosphats im ³¹P-NMR-Spektrum, bestätigen konnten (**Abb. 6.24 A**).

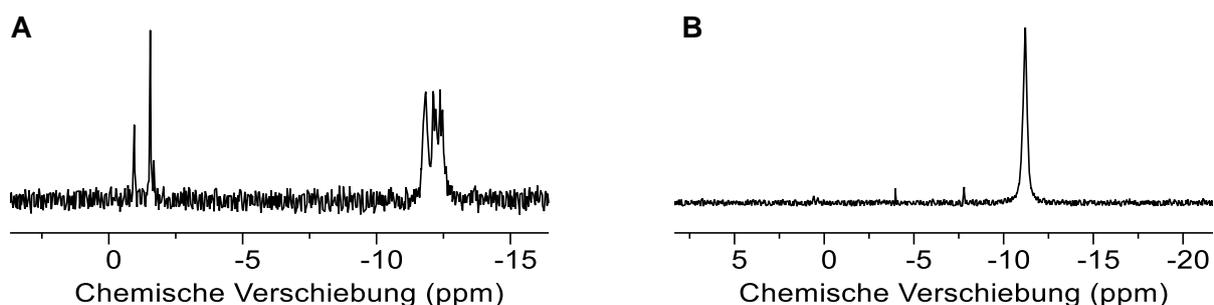


Abb. 6.24: Ausschnitte der ³¹P-NMR-Spektren der *caged* dADPR-Derivate. **A:** verunreinigtes *caged* TBS-dADPR **90** (400 MHz, CD₃CN, 300 K), **B:** *caged* dADPR **71** (600 MHz, D₂O, 300 K).

Wegen der Verunreinigungen wurde vor dem erneuten Reinigungsschritt keine Rohausbeute der Fraktion bestimmt, doch nach dem zweiten Reinigungsschritt konnte das Produkt **90** aufgrund der geringen Substanzmenge nicht mehr isoliert werden.

Für die Kupplung des Cyanoethylamidits **79** mit dAMP **41** wurde analog zur zuvor beschriebenen Reaktion Pyridiniumtrifluoacetat als Aktivator, *tert*-Butylhydroperoxid als Oxidationsmittel und Triethylamin zur Cyanoethylabspaltung verwendet (siehe **Abb. 6.25**).

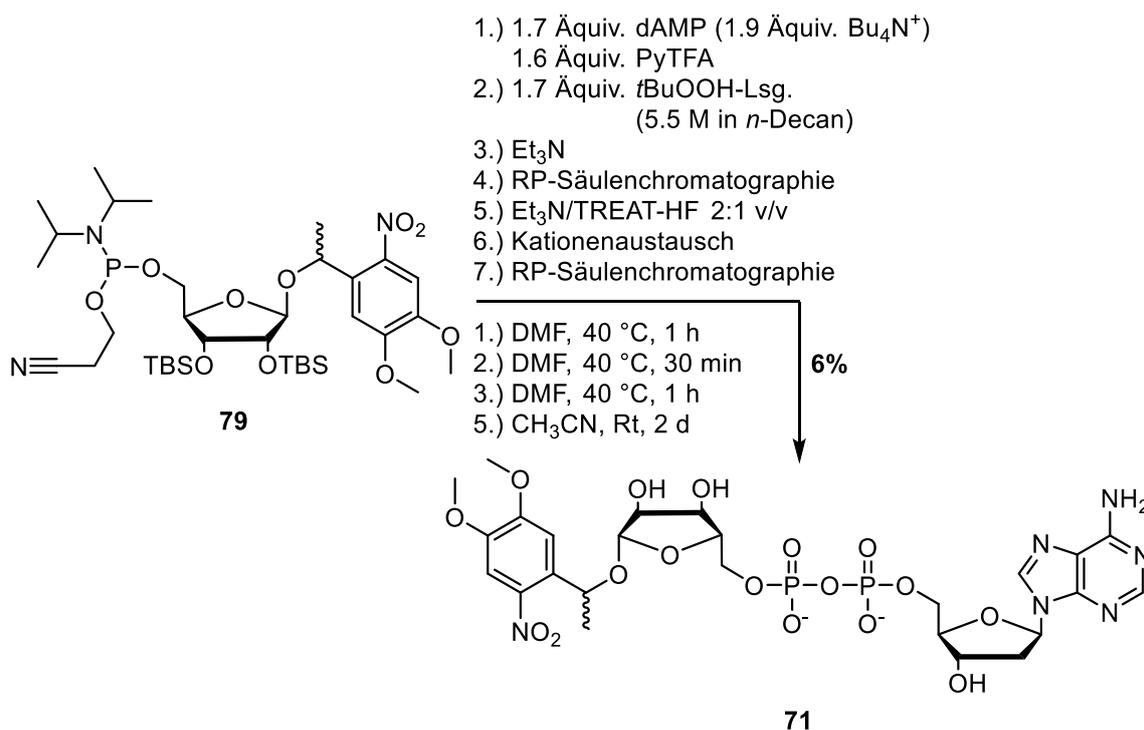


Abb. 6.25: Umsetzung des Cyanoethylphosphoramidit **79** zum *caged* dADPR **71**.

Nach der Oxidation wurde das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie vorgereinigt, wobei als wässriges Elutionsmittel TEAB-Puffer (0.1 M) verwendet wurde, um ein konstantes Verhältnis an Kationen und damit verbunden eine effizientere Reinigung des Produkts gewährleisten zu können. Die erhaltene Substanz wurde anschließend in einem 2:1-Gemisch aus Triethylamin und TREAT-HF über einen Zeitraum von zwei Tagen desilyliert, das Lösungsmittel entfernt, die Kationen zu Ammonium-Ionen ausgetauscht und abschließend erneut via RP-Säulenchromatographie gereinigt. Dabei konnte das freie *caged* dADPR **71** mit einer geringen Ausbeute von 6% erhalten werden. In **Abb. 6.24 B** ist ein Ausschnitt des ³¹P-NMR-Spektrums der Verbindung **71** in Deuteriumoxid dargestellt, in dem man die charakteristische chemische Verschiebung für Dinucleotide erkennen kann.

Da die Ausbeute des MeNV-dADPRs **71** über die beschriebenen Reaktionsschritte mit 6% gering ausgefallen ist, sollte eine effizientere Kupplungsmethode ermittelt werden, die zur Synthese des freien MeNV-ADPRs **69** sowie des bereits synthetisierten MeNV-dADPRs **71** verwendet werden kann. Im Folgenden wurden keine weiteren NV-Derivate mehr synthetisiert,

da diese als Referenzsubstanz mit vergleichsweise langsamen photolytischen Eigenschaften den zusätzlichen synthetischen Aufwand nicht rechtfertigen.

6.2.3 Synthese von MeNV-ADPR und -dADPR via Methylimidazolidat

Eine weitere Option zur Synthese von Dinucleotiden wurde von MOHAMADY *et al.* entwickelt, welche einen Schritt zur Aktivierung eines Monophosphats beinhaltet, das dadurch an Elektrophilie zunimmt und so mit anderen Phosphaten reagieren und eine Phosphoranhydridbindung ausbilden kann.^[132,133] In diesem Fall soll die Synthese von unmaskiertem *caged* ADPR **69** und dADPR **71** durch Kupplung des *caged* Ribosemonophosphats **80** mit AMP **40** bzw. dAMP **41** nach MOHAMADY *et al.* untersucht werden. Hierfür wurde zuerst das MeNV-Ribosemonophosphat **80** durch eine Phosphorylierungsreaktion hergestellt. In diesem Fall fand die Phosphorylierungsmethode mithilfe des Difluorenylmethylphosphoramidits **91** (Fm-Amidit) Anwendung. Das Reagenz **91** wurde zuerst nach der Vorschrift von WITT durch Reaktion von Dichlorophosphoramidit **92** mit 9-Fluorenylmethanol mit einer Ausbeute von 81% hergestellt (siehe **Abb. 6.26**).^[134]

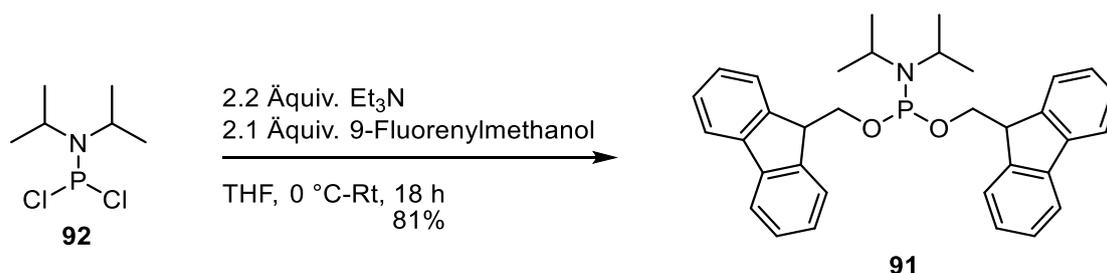


Abb. 6.26: Synthese von Fm-Amidit **91** aus Dichlorophosphoramidit **92**.

Im nächsten Schritt wurde das acetylierte MeNV-Ribose-Derivat **46** mit dem Fm-Amidit **92** durch Zugabe des aciden Aktivators Pyridiniumtrifluoacetat zur Reaktion gebracht und anschließend durch Zugabe von *tert*-Butylhydroperoxid zum Fluorenylmethyl (Fm)-geschützten Phosphorsäuretriester **93** oxidiert (siehe **Abb. 6.27**). Das Produkt **93** konnte dabei mit einer Ausbeute von 81% isoliert werden. Für die folgende Stufe wurden Reaktionsbedingungen gewählt, die sowohl das Monophosphat durch Abspaltung der Fm-Gruppen entschützt als auch die Acetylgruppen entfernt. Hierfür wurde nach der Vorschrift von WITT das Fm-geschützte Monophosphat **93** in einem Gemisch aus Methanol, Triethylamin und Wasser gelöst und für 18 Stunden gerührt.^[134] Die Reinigung erfolgte via automatisierter RP-Säulenchromatographie mit TEAB-Puffer (0.1 M) als wässrigem Elutionsmittel. Daraus resultierend konnte das MeNV-Ribosemonophosphat **80** als Triethylammonium-Salz (mit 1.2 Äquiv. Triethylammonium-Ionen) mit einer Ausbeute von 61% erhalten werden.

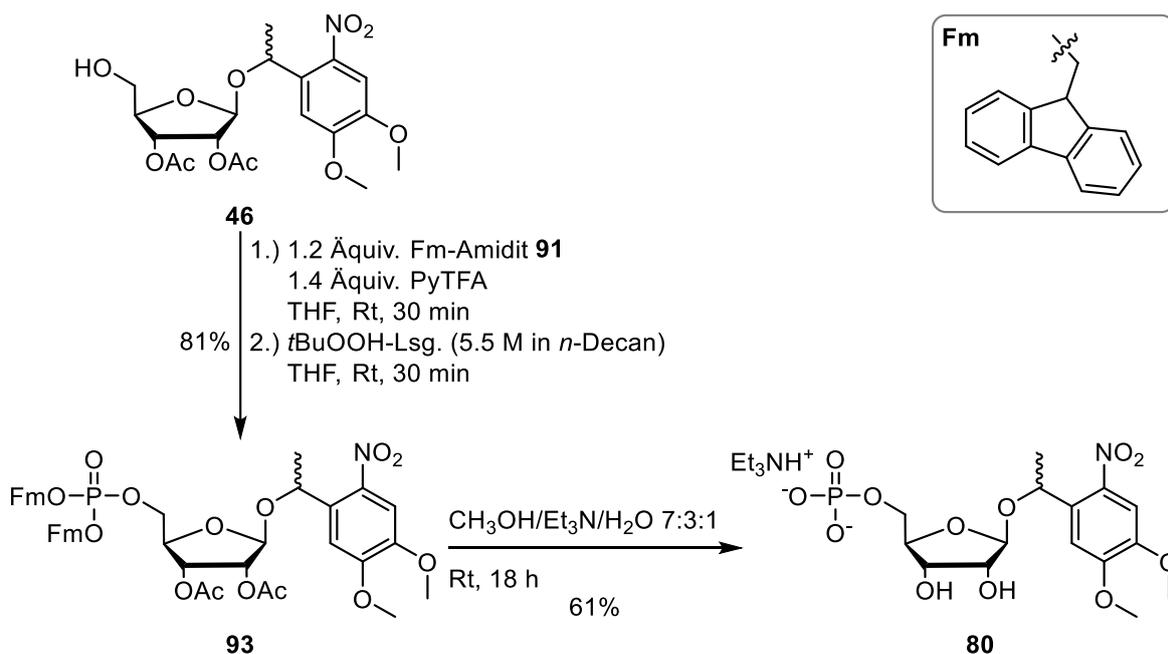


Abb. 6.27: Synthese des *caged* Ribosemonophosphats **80** aus dem acetylierten *caged* Ribose-Derivat **46** über das Fm-geschützte Monophosphat **93**.

Anschließend wurde die Kupplung vom Ribosemonophosphat **80** mit AMP **40** bzw. dAMP **41** nach MOHAMADY *et al.* durchgeführt (siehe **Abb. 6.28**).^[133] Dafür wurde das Natriumsalz von AMP **40** oder dAMP **41** in Acetonitril suspendiert und mit einem Überschuss an Triethylamin und TFAA versetzt. Unter diesen Bedingungen werden alle reaktiven Gruppen trifluoracetyliert, was eine erhebliche Steigerung der Löslichkeit des Monophosphats mit sich bringt. Zusätzlich reagiert das Monophosphat mit TFAA zum gemischten Anhydrid aus einem Phosphorester und einer Trifluoracetylgruppe. Das hat die Bildung des pertrifluoracetylierten AMP-Derivats **94** bzw. dAMP-Derivats **95** zur Folge, welches im Gegensatz zum eingesetzten Monophosphat sehr gut in Acetonitril löslich ist. Nachdem der Überschuss an Reagenzien entfernt wurde, erfolgte die Zugabe von einem Überschuss an Triethylamin und Methylimidazol. Das Methylimidazol bewirkt eine Spaltung des gemischten Anhydrids unter Eliminierung eines Trifluoracetats zur Bildung eines Methylimidazolids. Das gebildete Zwitterion **96** bzw. **97** weist eine erhöhte Reaktivität gegenüber Phosphatnucleophilen auf. Für den Kupplungsschritt wurde MeNV-Ribosemonophosphat **80** zum Imidazolidat zugegeben und für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die anschließende Reinigung via automatisierter RP-Chromatographie bewirkte durch das wässrige Medium indirekt eine Spaltung der Trifluoracetylgruppen. Die Gegenionen des Rohprodukts wurden nach dem ersten Reinigungsschritt gegen Ammoniumionen getauscht und abschließend wurde das Rohprodukt erneut RP-säulenchromatographisch gereinigt. Dabei konnten sowohl MeNV-ADPR **69** als auch das entsprechende dADPR-Derivat **71** in Ausbeuten von 44% bzw. 77% erhalten werden, welche in etwa der 50% - 70% der für die angewendete Kupplungsmethode üblichen Ausbeute entsprechen.^[132] Da im Vergleich zur Synthese über die Cyanoethylphosphor-

amidite **78** und **79** die Ausbeuten der abschließenden Kupplung via Imidazolidat deutlich höher sind und die Reaktionsbedingungen durch den *one-pot* Ansatz leicht zu handhaben sind, wird abschließend die Synthese von *caged* ADPR-Derivaten über das Imidazolidat empfohlen.

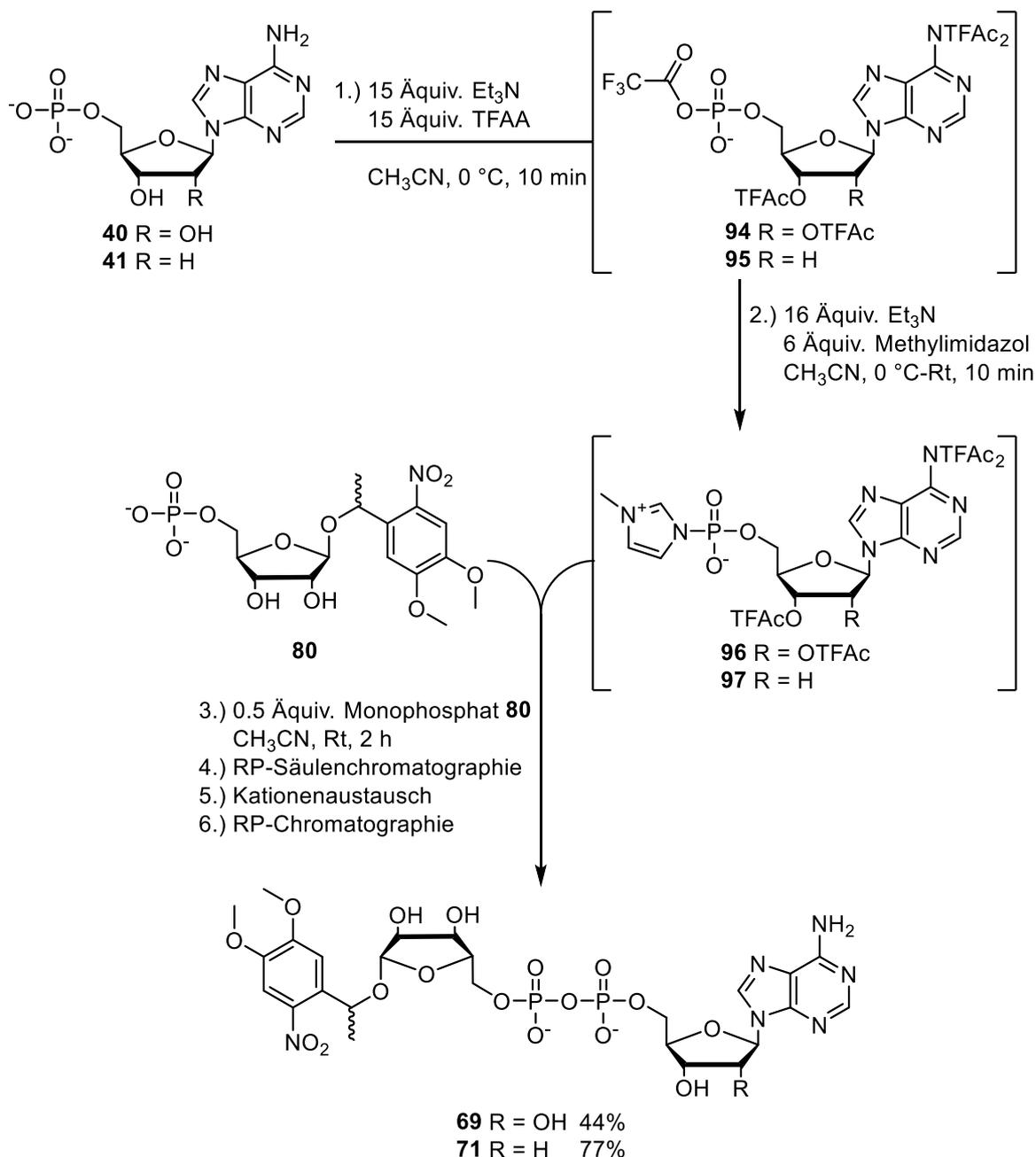


Abb. 6.28: Synthese des MeNV-ADPRs **69** und -dADPRs **71** durch Aktivierung des AMPs **40** bzw. dAMPs **41** mit TFAA und Methylimidazol zur anschließenden Kupplungsreaktion mit MeNV-Ribose-monophosphat **80**.

6.2.4 Synthese von diacetylierten Referenzsubstanzen

Da die freien MeNV-ADPR und -dADPR-Derivate **69** und **71** erfolgreich als Referenzsubstanz hergestellt werden konnten, lag ebenfalls die Synthese des zweifach acetylierten MeNV-ADPRs **65** nahe. Mit diesem Derivat als Referenzsubstanz kann durch zelluläre Tests

Bedingungen müssen gelten, da bekanntermaßen an veresterter Ribose eine Migration der Estergruppen bereits bei schwach aciden oder schwach basischen Bedingungen erfolgen kann.^[135] Aus diesem Grund soll sowohl die Photolyse vom MeNV-Derivat **65** als auch die Reduktion vom Benzyl-Derivat **98** in gepuffertem Lösungsmittel erfolgen, um die Acetylgruppenmigration möglichst zu unterbinden. Die geschützten ADPR-Derivate **65** und **98** sollen ebenfalls per Kupplung mit AMP **40** über das Imidazolidat aus den entsprechenden 1''-MeNV-Ribosemonophosphat **99** und dem 1''-Benzylribosemonophosphat **100** erfolgen.

Für die Synthese des diacetylierten MeNV-ADPRs **65** wurde das für die Kupplung benötigte Monophosphat **99** hergestellt (siehe **Abb. 6.30**), was analog zu der in Kapitel 6.1.2 durchgeführten Synthese des MeNV-Ribosemonophosphats **80** erfolgte. Statt zuvor zwei Stufen wurde die Synthese des Monophosphats **99** in einer Stufe mit zwei Reaktionsschritten durchgeführt. Zunächst erfolgte die Synthese des Phosphatriesters **93**, welcher nach einer anschließenden Oxidation direkt durch Zugabe von Triethylamin zum Monophosphat umgesetzt wurde. Nach der RP-säulenchromatographischen Reinigung mit TEAB-Puffer (0.1 M) wurde das zweifach acetylierte Ribosemonophosphat **99** als Salz mit 1.9 Äquiv. Triethylammoniumionen mit einer Ausbeute von 63% erhalten.

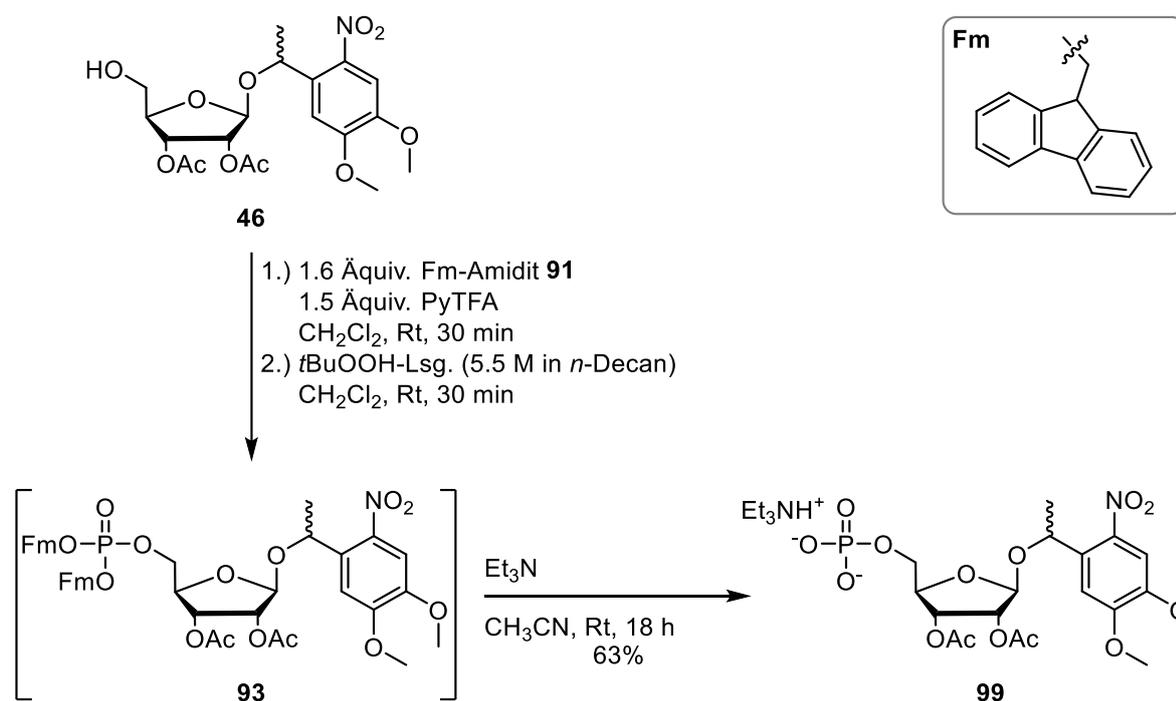


Abb. 6.30: Synthese des diacetylierten MeNV-Ribosemonophosphats **99** aus dem zweifach acetylierten MeNV-Ribose-Derivat **46** durch Phosphorylierung via Fm-Amidit **91**.

Vor der Kupplung des MeNV-Ribosemonophosphats **99** wird erst die Synthese des 1''-Benzyl-Ribosemonophosphats **100** beschrieben. Dessen Synthese erfolgte analog zu der in Kapitel 6.1.2 beschriebenen Synthese des zweifach acetylierten MeNV-Ribose-Derivats **46**. Für die LA-vermittelte β -selektive Glycosylierungsreaktion wurden nach der Vorschrift von DVORAKOVA *et al.* das tribenzoylierte Ribose-Derivat **49** mit Benzylalkohol zur Reaktion

gebracht (siehe **Abb. 6.31**).^[136] Daraus konnte das benzylierte Derivat **101** mit einer Ausbeute von 94% als reines β -Anomer erhalten werden, was ähnlich zu der von DVORAKOVA *et al.* beschriebenen quantitativen Ausbeute ist.^[136]

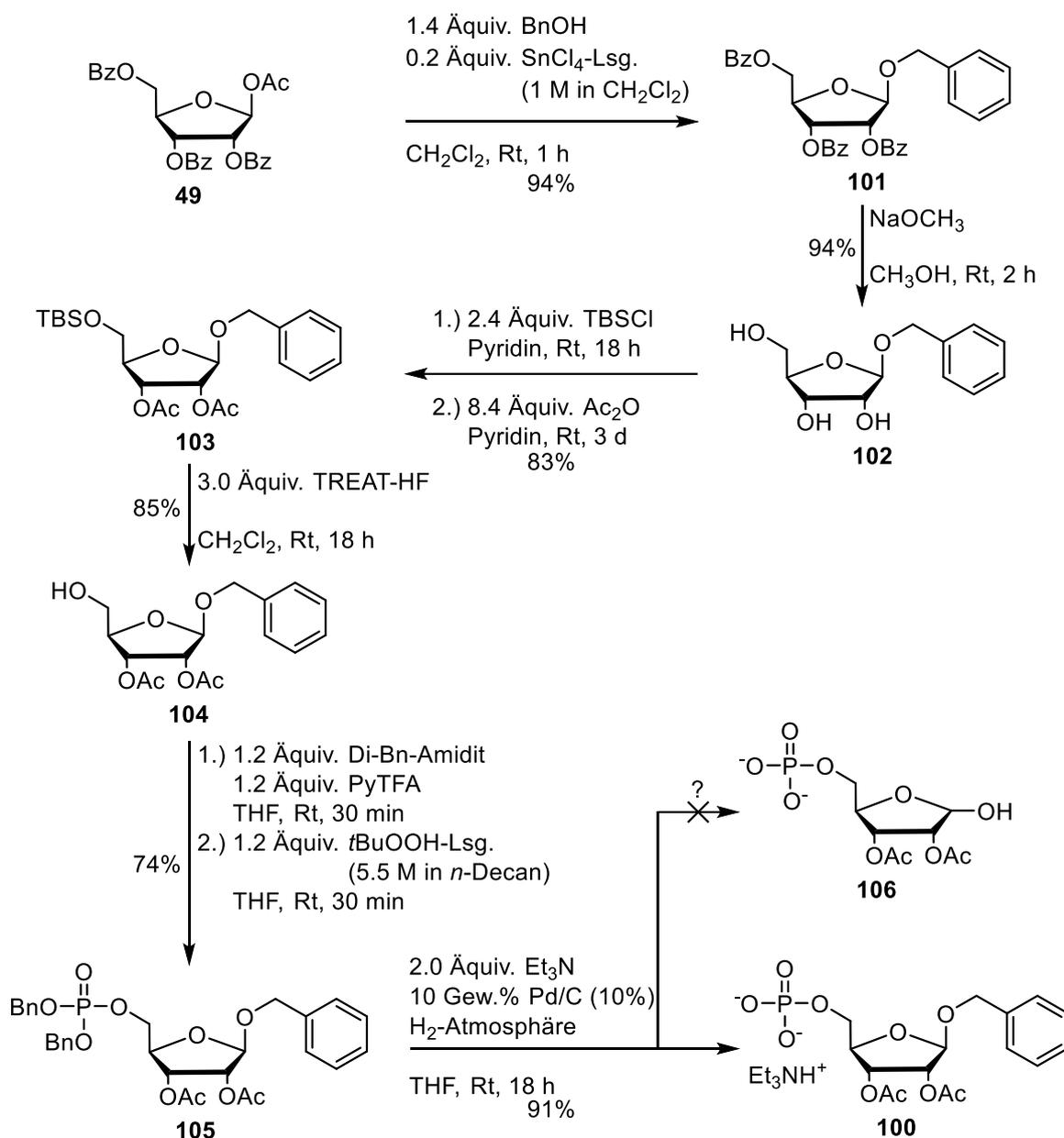


Abb. 6.31: Synthese des Benzyl-Ribosemonophosphats **100** ausgehend von Glycosyl-Donor **49** und Benzylalkohol. Nach der initialen Glycosylierungsreaktion folgen einige Schritte mit Schutzgruppensynthesen, bis das Monophosphat **100** durch abschließende reduktive Spaltung des Dibenzyldiphosphoesters **105** erhalten werden konnte.

Die Abspaltung der Benzoylschutzgruppen erfolgte durch katalytische Mengen Natriummethanolat in Methanol. Eine anschließende säulenchromatographische Reinigung bewirkte eine vollständige Degradation des Produkts **102**, weshalb analog zu DVORAKOVA *et al.* nur eine wässrige Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erfolgte.^[136] So konnte die Benzyl-Ribose **102** mit ausreichender Reinheit mit einer Ausbeute von 94% isoliert werden. Für die Literatursausbeute wird von DVORAKOVA *et al.* eine Ausbeute von 100% angegeben.^[136] Der

nächste Reaktionsschritt erfolgte analog zur in Kapitel 6.1.2 beschriebenen Synthese für die Silylierung der 5-Position mit anschließender Acetylierung. Hierfür wurde erst das Benzyl-Ribose-Derivat **102** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid selektiv an 5-Position silyliert und anschließend im gleichen Reaktionsgefäß durch Essigsäureanhydrid acetyliert. Das silylierte und acetylierte Produkt **103** wurde mit einer Ausbeute von 83% isoliert und anschließend durch Verwendung von TREAT-HF an der 5-Position selektiv entschützt. Die in Kapitel 6.1.2 beschriebene Ausbeute für die Desilylierungsreaktion der silylierten *caged* Ribose-Derivate **45** und **46** überstieg jeweils 96%, weshalb die Ausbeute bei der Entschützung der Verbindung **103** zum 5-Hydroxy-Derivat **104** mit 85% vergleichsweise etwas geringer ausfällt. Eventuell ist die Benzylgruppe am anomeren Zentrum gegenüber schwach acider Bedingungen etwas labiler, wie es bereits an der Degradation der Benzyl-Ribose **102** beim Reinigungsschritt beobachtet werden konnte. Im nächsten Reaktionsschritt wurde durch die Reaktion des 5-Hydroxy-Derivats **104** mit dem Dibenzylphosphoramidit unter acider Katalyse mit Pyridiniumtrifluoracetat und anschließender Oxidation durch *tert*-Butylhydroperoxid der Dibenzylphosphatdiester **105** erhalten. Die Isolation des Produkts **105** erfolgte mit einer Ausbeute von 74%, was im Rahmen der Literaturausbeuten von 68 - 96% für Dibenzylphosphat-Synthesen liegt.^[136] Die anschließende Abspaltung der Benzylgruppen am Phosphat wurde durch eine hydrogenolytische Reduktion erreicht. Dafür wurde die doppelte stöchiometrische Menge an Triethylamin zugegeben, um das entstehende protonierte Phosphat zu neutralisieren und das Triethylammonium-Salz zu bilden. Die Reaktion erfolgte durch Zugabe von Palladium auf Aktivkohle (10%) als Katalysator mit anschließendem Rühren der Suspension in einer Wasserstoffatmosphäre. Um die Abspaltung der anomeren Benzylgruppe zu verhindern, wurde Tetrahydrofuran als aprotisches Lösungsmittel verwendet, wodurch nach einer Reaktionsdauer von 18 Stunden und abschließender Reinigung das Benzyl-Ribosemonophosphat **100** als Triethylammonium-Salz mit 1.6 Äquiv. Triethylammonium-Ionen mit einer sehr guten Ausbeute von 91% erhalten werden konnte. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass kleine Mengen des komplett debenzylierten Derivats **106** entstanden sind. Da dieses Produkt **106** jedoch keine UV-Aktivität aufweist, wurde es nicht beim Reinigungsschritt beobachtet bzw. isoliert, weshalb keine Aussage über die gebildete Menge des Nebenprodukts **106** getroffen werden kann. Sie sollte jedoch angesichts der Ausbeute des Monophosphats **100** von 91% vernachlässigbar sein.

Für die folgende Kupplung wurde erneut AMP **40** durch Zugabe von Triethylamin, TFAA und Methylimidazol in das entsprechende aktive Imidazolidat umgewandelt, sodass die anschließende Zugabe des Monophosphats **99** bzw. **100** zur Bildung der acetylierten ADPR-Derivate mit der MeNV-Gruppe **65** bzw. mit der Benzylgruppe **98** geführt hat (siehe **Abb. 6.32**). Die Rohprodukte wurden erneut unter Verwendung von 0.1 M TEAB-Puffer RP-säulenchromatographisch gereinigt, die Kationen auf Ammonium-Ionen getauscht und

abschließend erneut gereinigt. Die Ausbeute des acetylierten MeNV-Derivats von 48% ist mit der Ausbeute von 44% für das unmaskierte MeNV-ADPR **69** vergleichbar. Das acetylierte Benzyl-ADPR-Derivat konnte mit einer leicht geringeren Ausbeute von 31% erhalten werden. Es wird vermutet, dass in diesem Fall wieder die Benzylgruppe eine gewisse Labilität aufweist und dementsprechend die Ausbeute des gewünschten Produkts **98** leicht vermindert. Unabhängig davon konnten jedoch beide Dinucleotid-ähnlichen Produkte **65** und **98** erfolgreich hergestellt werden, wobei bereits das MeNV-Derivat **65** als Referenzsubstanz für die photolytische Freisetzung für ADPR **1** in Zellen fungieren kann.

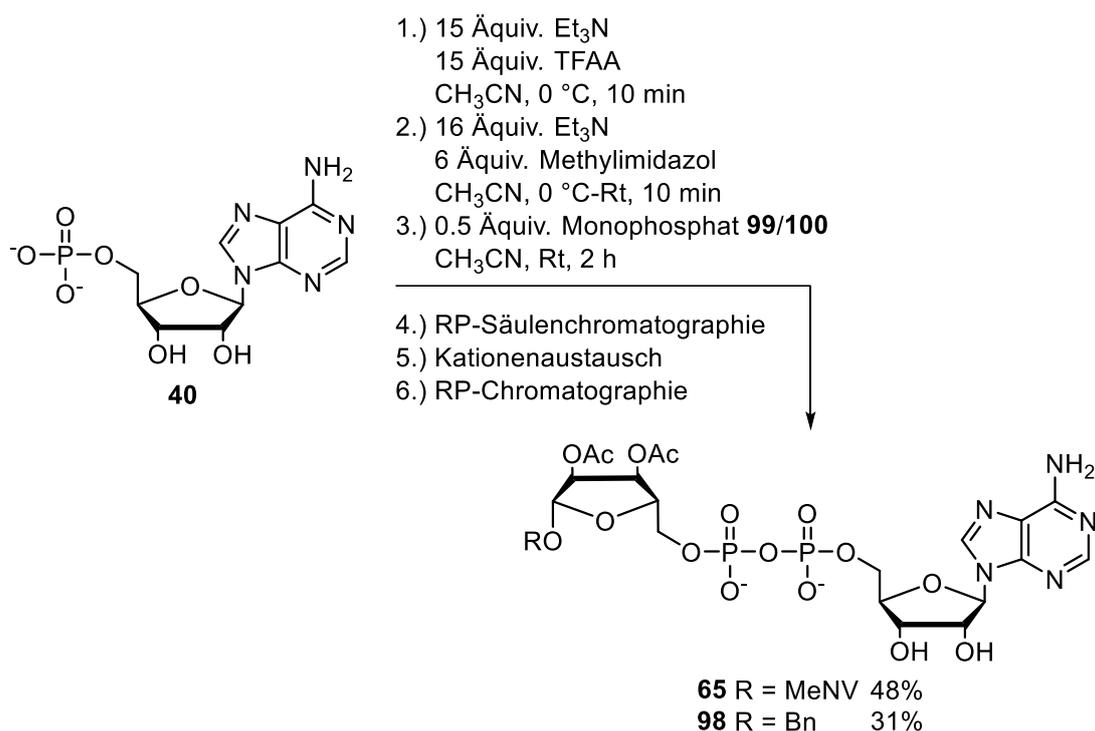


Abb. 6.32: Kupplungsreaktion der Monophosphate **99** und **100** mit dem *in situ* aus AMP **40** hergestellten Imidazolidat zu den acetylierten ADPR-Derivaten mit MeNV-Gruppe **65** sowie mit Benzylgruppe **98**.

Zusätzlich sollte das diacetylierte ADPR-Derivat **72** für Aktivitätsbestimmungen hergestellt werden, indem die geschützten Derivate **65** und **98** selektiv an der 1'-Position entschützt werden (siehe **Abb. 6.33**). Dies wurde auf zwei unterschiedliche Synthesewege versucht und als Konstante zwischen beiden Synthesen wurden diese in PBS-Puffer durchgeführt. Der durch den Puffer konstant gehaltene pH-Wert sollte eine mögliche Migration der Acetylgruppen von der 2'- oder 3'-Position auf die 1'-Position möglichst verhindern.

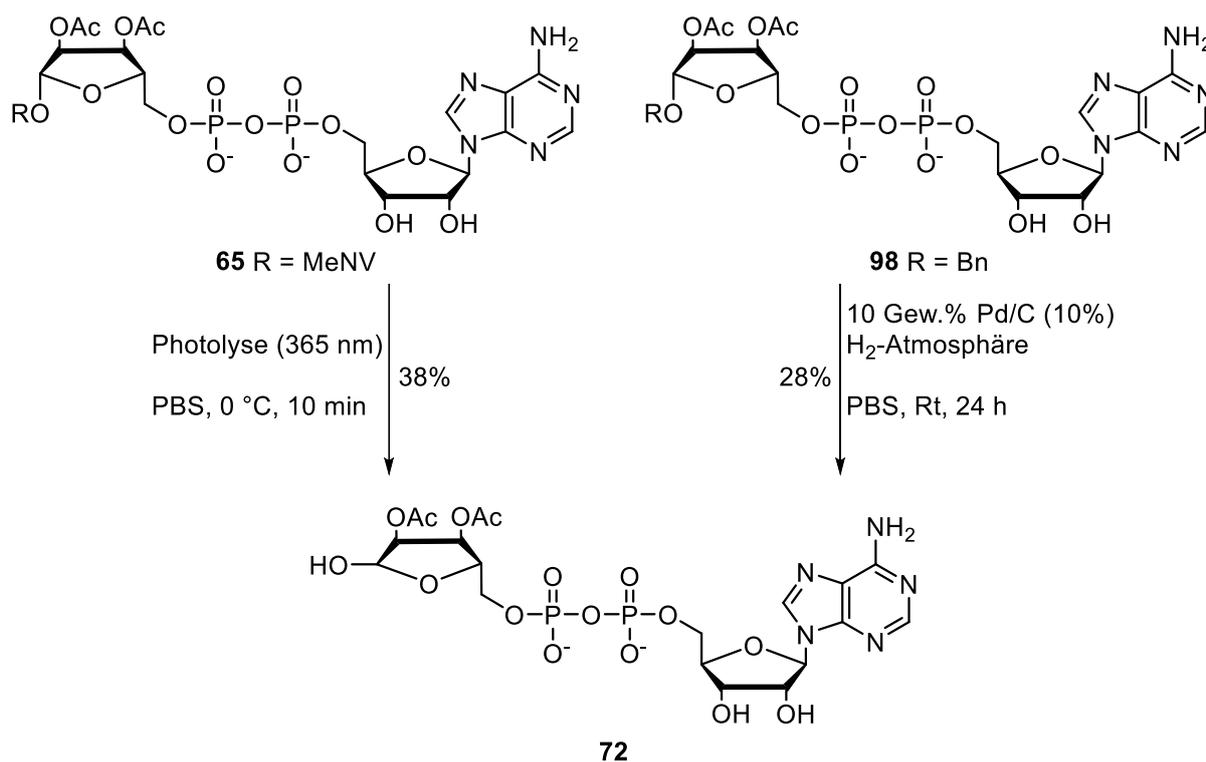


Abb. 6.33: Synthese des diacetylierten ADPR-Derivats **72** durch Photolyse aus dem acetylierten MeNV-ADPR **65** bzw. durch Hydrogenolyse aus dem acetylierten Benzyl-ADPR **98**.

Für die photolytische Freisetzung des ADPR-Derivats **72** aus dem MeNV-ADPR-Derivat **65** wurde dieses in PBS-Puffer gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde die Reaktionslösung für eine Minute unter Rühren bei 365 nm bestrahlt und anschließend erneut kurz mit Eiswasser gekühlt. Dies sollte gewährleisten, dass die zusätzliche thermische Energie, die durch Absorption des eingestrahlt Lichts vom Photogruppen-Spaltprodukt freigesetzt wird, keine chemische Hydrolyse der Acetylgruppen induziert. Die Photolyse sowie die Kühlung wurde wiederholt, bis die Bestrahlungsdauer insgesamt zehn Minuten betrug. Nach der anschließenden RP-säulenchromatographischen Reinigung konnte das diacetylierte ADPR-Derivat **72** mit einer Ausbeute von 38% isoliert werden. Ein Ausschnitt des ³¹P-NMR-Spektrums der Verbindung **72** ist in **Abb. 6.34** dargestellt und zeigt ein deutliches Singulett bei ca. -10 ppm, welches charakteristisch für dinucleotidische Verbindungen im wässrigen Lösungsmittel ist. Zusätzlich wurden 37% des Edukts **65** reisoliert, wodurch sich abzüglich der reisolierten Ausbeute eine Photolyseausbeute von 59% ergibt. Diese kann trotz der langen Bestrahlungsdauer damit begründet werden, dass bereits nach der ersten Minute der Bestrahlung eine trübe Suspension entstanden ist. Diese ist vermutlich auf das Abspaltprodukt der Photogruppe zurückzuführen, welches nicht in PBS-Puffer löslich zu sein scheint. Der ausgefallene Feststoff hat sich auf die Wand des Reaktionsgefäßes niedergeschlagen, wodurch vermutet wird, dass eine effiziente Bestrahlung der Reaktionslösung nicht weiter möglich war. Ebenso kann nicht ausgeschlossen werden, dass durch die intensive Bestrahlung des Nebenprodukts dieses mit dem Edukt reagiert hat, was einen negativen

Einfluss auf die Gesamtausbeute haben könnte. Bei einer Wiederholung der Photolyse wird empfohlen, die Reaktionslösung nach jedem Bestrahlungs- und vor jedem Kühlungsschritt zu filtrieren, bevor erneut bestrahlt wird, um das ausgefallene Spaltprodukt zu entfernen und so eine effizientere Bestrahlung zu ermöglichen.

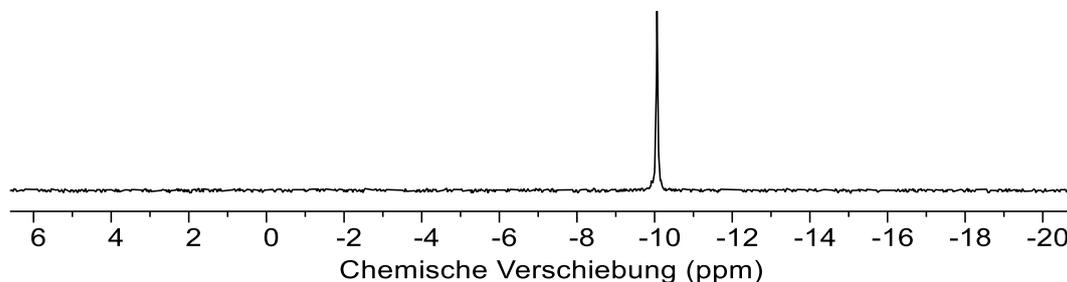


Abb. 6.34: Ausschnitt des ^{31}P -NMR-Spektrums (500 MHz, D_2O , 300 K) des diacetylierten ADPRs **72**, welches durch Photolyse aus dem acetylierten MeNV-ADPR **65** erhalten wurde.

Das Benzyl-ADPR-Derivat **98** sollte durch eine hydrogenolytische Reduktion in das diacetylierte ADPR-Derivat **72** umgesetzt werden. Dementsprechend wurde das Edukt in PBS-Puffer gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle (10%) versetzt. Bei Verwendung einer Wasserstoffatmosphäre zum Reduzieren der Benzyl-Gruppe konnte nach Aufarbeitung nur das Edukt **98** isoliert werden, weshalb bei einem neuen Ansatz das Wasserstoff-Gas direkt in die Lösung eingeleitet wurde. Nach 24 Stunden Reaktionsdauer wurde die Reaktion abgebrochen und säulenchromatographisch gereinigt. Als Resultat konnte eine Ausbeute von 28% für das diacetylierte ADPR-Derivat **72** erzielt werden. Da außerdem 53% des Edukts reisolieren konnten, beträgt die effektive Ausbeute der Reduktion 50%. Es kann nur vermutet werden, dass durch die negativen Ladungen des Pyrophosphat-Rückgrats nicht umgesetztes Edukt **98** oder sogar das Produkt **72** am Katalysator oder der Aktivkohle assoziiert vorlagen, was vor der säulenchromatographischen Reinigung durch Filtrieren der Reaktionslösung abgetrennt wurde. Zwar wurde der Rückstand im Filter mit dem PBS-Puffer gewaschen, doch das garantiert nicht, dass assoziierte Moleküle vom Katalysator gewaschen wurden. Es wird angenommen, dass eine höhere Ausbeute durch erhöhten Wasserstoffdruck im Reaktionsgefäß oder eine längere Reaktionszeit erzielt werden kann, da noch ein großer Anteil des Edukts **98** reisolieren konnte. Zusammenfassend kann aus den erhaltenen Ergebnissen geschlossen werden, dass die Synthese des diacetylierten ADPR-Derivats **72** sowohl photolytisch als auch katalytisch erfolgen kann. Dies ist insofern hilfreich, da nicht gewährleistet werden kann, dass jedem zur Synthese der Verbindung auch das entsprechende Photolyse- oder Hydrogenolysematerial zur Verfügung steht. Es wird jedoch in Bezug auf die Handhabbarkeit der Reaktionen sowie der besseren Ausbeuten der Syntheseweg über die photolytische Freisetzung des MeNV-Derivats **65** empfohlen.

Abschließend wurde anhand des in **Abb. 6.35** dargestellten HMBC (*heteronuclear multiple bond correlation*) NMR-Spektrums überprüft, dass das 2'',3''-diacetylierte Derivat erhalten wurde und keine Migration einer Acetylgruppe zur 1''-Position stattfand. Die horizontale Projektion des HMBC-Spektrums zeigt das ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **72**, aus dem deutlich wird, dass trotz zwei möglicher Anomere die chemischen Verschiebungen beider Anomere nahezu keine Unterschiede aufweisen. Dies stellt ein erstes Indiz dar, dass die Mutarotation des anomeren Zentrums ungehindert in wässrigem Lösungsmittel stattfinden kann. Zusätzlich sollte bei einem 1''-acetylierten Derivat ein Kreuzsignal für das koppelnde Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe der Acetylgruppe und dem anomeren Proton zu erkennen sein.

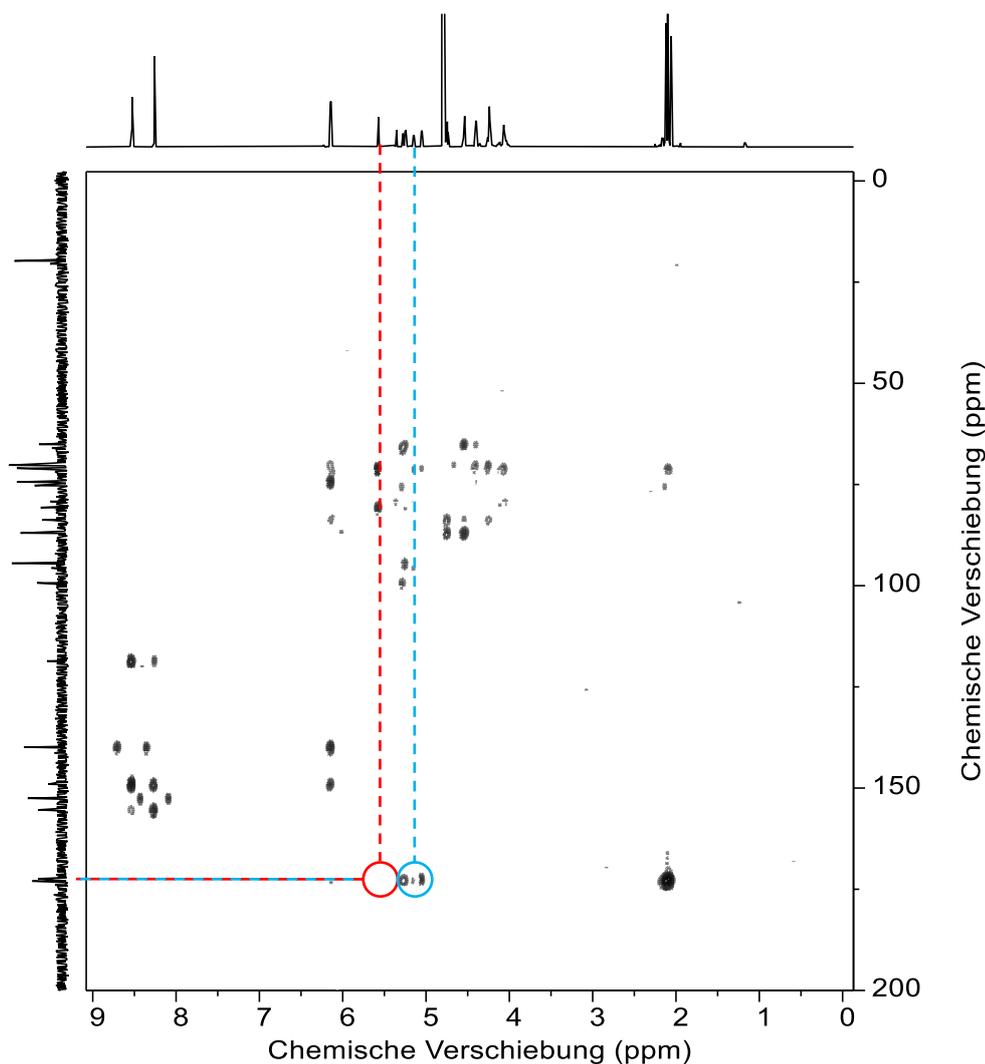


Abb. 6.35: ¹H-¹³C-HMBC-NMR-Spektrum (600 MHz, D₂O, 300 K) des diacetylierten ADPRs **72**, welches durch Hydrogenolyse aus dem acetylierten Benzyl-ADPR **98** erhalten wurde. Es ist der Bereich rot markiert, in dem ein Kreuzsignal für ein 1''-acetyliertes Nebenprodukt erwartet wird, welches durch Acetylmigration gebildet worden wäre. Die blaue Markierung zeigt, dass nur Kreuzsignale zwischen den 2''- und 3''-Protonen zu den Carbonylgruppen zu beobachten sind.

Die rote Markierung zeigt, dass das Signal des anomeren Protons bei 5.57 ppm im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine skalare 3J -Kopplung zum Carbonylkohlenstoffatom aufweist, welches eine charakteristische chemische Verschiebung bei 173 ppm besitzt. Die Carbonylsignale der Acetylgruppen weisen lediglich Kopplungssignale zu den 2''- und 3''-Protonen zwischen 5.30 - 5.00 ppm auf, was für die bestehende Acetylierung dieser Positionen steht. Beim Vergleich des zuerst gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums, mit dem zum HMBC-NMR-Spektrum zugehörigen ^1H -Spektrum ist aufgefallen, dass bereits in der Zeit zwischen den Messungen neue Signale zu erkennen waren und somit Isomerisierungen stattgefunden haben, was darauf schließen lässt, dass bei neutralem pH-Wert weiterhin die Acetylmigration, wenn auch im geringen Ausmaß, stattfindet.

6.2.5 Photolyseexperimente an *caged* ADPR und *caged* dADPR

Abschließend wurden Photolysen der synthetisierten Derivate MeNV-ADPR **69** und MeNV-dADPR **71** durchgeführt, um deren Freisetzungsgeschwindigkeit in einen vergleichbaren Kontext setzen zu können (siehe **Abb. 6.36**). Neben der bisher verwendeten Photolysebedingungen bei 365 nm wurde bei den beiden Derivaten auch die Freisetzung des freien ADPRs **1** bzw. dADPRs **2** bei einer Bestrahlungswellenlänge von 405 nm untersucht. Damit wurde untersucht, welchen Verlust die Freisetzungsgeschwindigkeit erfährt, wenn bei Wellenlängen bestrahlt wird, die für Zellen weniger schädlich sind als das Absorptionsmaximum der MeNV-Gruppe.

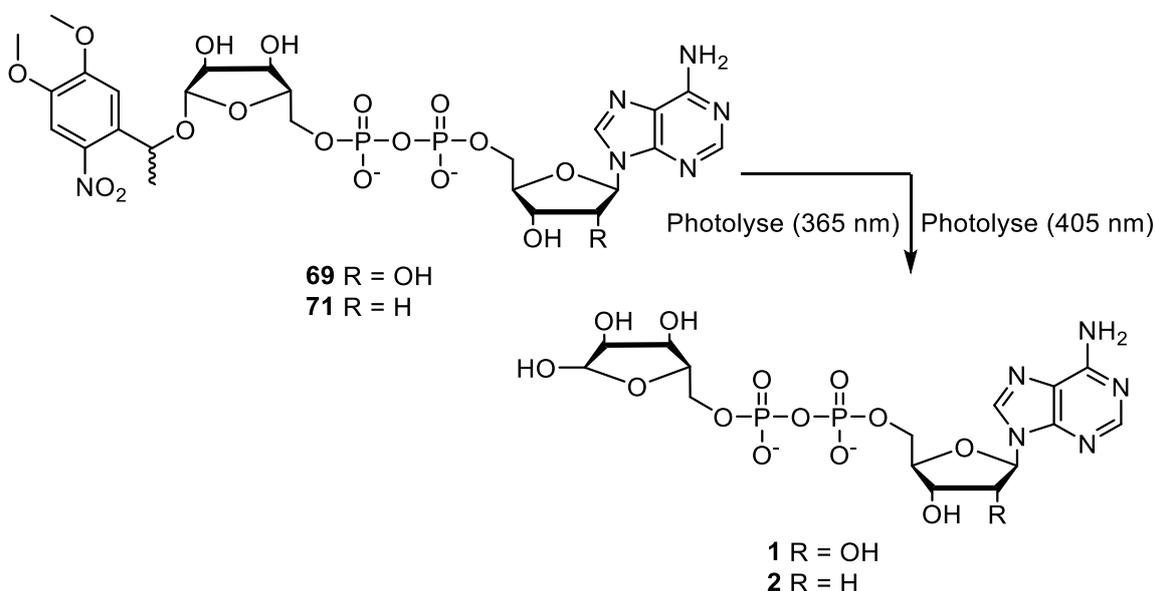


Abb. 6.36: Photolytische Reaktion des MeNV-ADPRs **69** und -dADPRs **71** bei 365 nm und 405 nm zur Freisetzung von ADPR **1** und dADPR **2**.

Die Bestrahlung des MeNV-ADPRs **69** erfolgte nach der in Kapitel 7.1.6 aufgeführten Vorschrift für Photolysen bei einer Wellenlänge von 365 nm. Die Reaktionsverfolgung erfolgte in diesem Fall ausschließlich via HPLC und die Ergebnisse sind in **Abb. 6.37** dargestellt. Der

Peak des Edukts **69** weist zum Start der Photolyse eine Retentionszeit von 10.5 min auf und nimmt mit zunehmender Bestrahlungsdauer ab. Neben wenigen Peaks geringerer Intensität wird die Entstehung eines neuen Peaks bei 9.1 min beobachtet, der sich innerhalb weniger Sekunden Bestrahlungsdauer zum dominanten Peak im Chromatogramm entwickelt. Durch einen Vergleich der Retentionszeiten konnte dieser Peak als freies ADPR **1** bestimmt werden. Die Abnahme der Intensität des Eduktpeaks erfolgt mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 3.3$ s, was fast dem Dreifachen der gemittelten Halbwertszeit von $t_{1/2} = 1.2$ s entspricht, die in Kapitel 6.1.5 für die Photolyse des zweifach acetylierten MeNV-Derivats **65** nach Hydrolyse des vollständig maskierten *caged* ADPRs **37** bestimmt wurde. Die Photolysegeschwindigkeit der MeNV-Gruppe sollte in der Regel bei ähnlichen freizusetzenden Substraten auch ähnliche Werte annehmen. Eine nähere Betrachtung der UV-Spektren des Eduktsignals nach den einzelnen Photolysezeitpunkten liefert eine Erklärung dieser Diskrepanz (siehe **Abb. 6.37 C** und **D**).

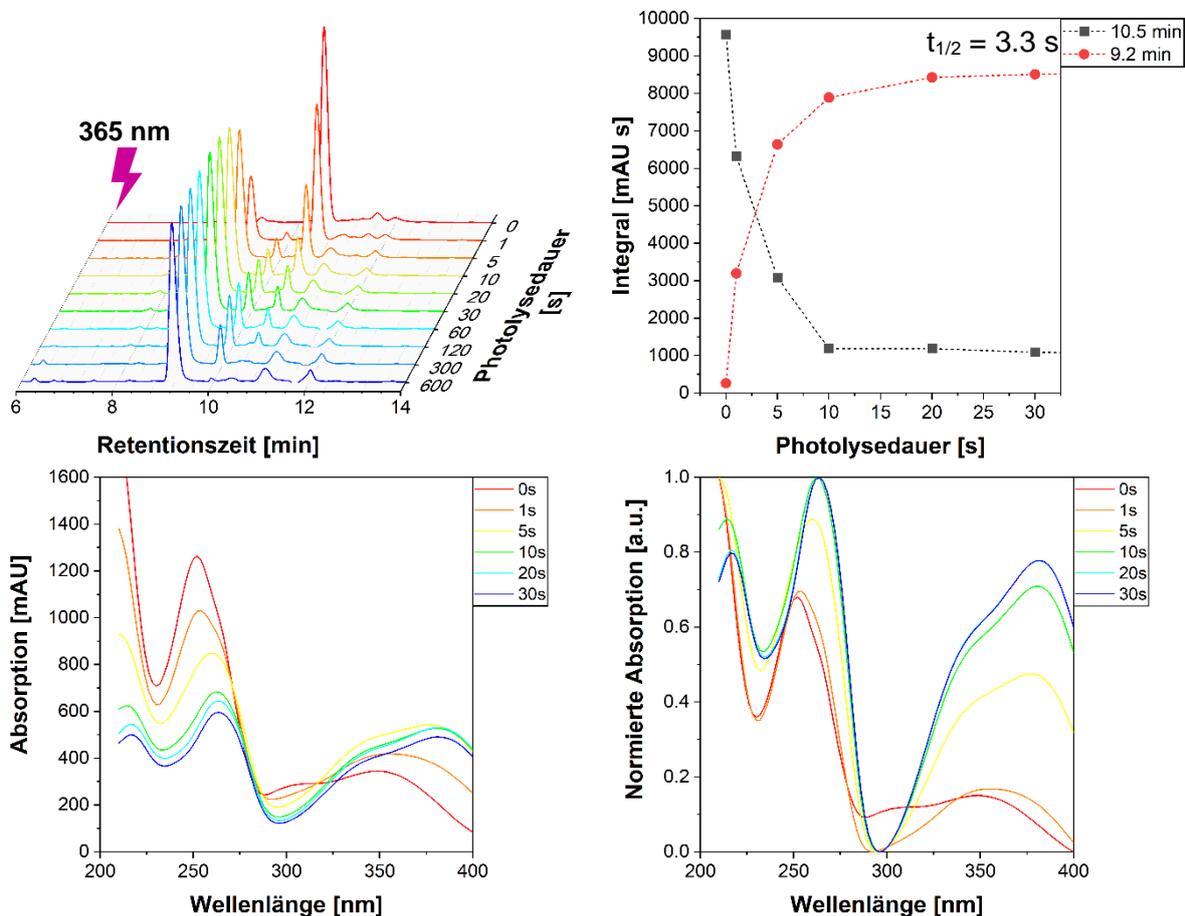


Abb. 6.37: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-ADPRs **69** bei 365 nm. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 5**). **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 10.5 min zu den jeweiligen Zeitpunkten. **D:** Normierte Darstellung der UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 10.5 min zu den jeweiligen Zeitpunkten.

Während das UV-Absorptionsspektrum des Eduktsignals über die Dauer der Photolyse erwartungsgemäß absolut abnimmt, sollte sich jedoch das Absorptionmuster bzw. die relative Absorption einzelner Wellenlängen zueinander weiterhin nicht verändern. Während das aus der absoluten Betrachtung der UV-Absorptionsspektren nicht sofort deutlich wird, liefert die normierte Darstellung der UV-Absorptionsspektren ein eindeutigeres Bild. Während das Eduktsignal zum Start der Photolyse das für Adenosin charakteristische lokale Maximum bei ca. 250 nm sowie das lokale Maximum der Photogruppe bei ca. 350 nm aufweist, ist eine eindeutige Veränderung des Absorptionmusters nach bereits 1 s Bestrahlungsdauer, noch deutlicher beim Zeitpunkt von 5 s Bestrahlungsdauer, zu erkennen. Dies lässt auf die Entstehung eines undefinierten Nebenprodukts schließen, welches die gleiche Retentionszeit wie das eingesetzte MeNV-ADPR **69** aufweist. Dementsprechend ist anzunehmen, dass die Integrale zu den verschiedenen Zeitpunkten höher als der wahre Gehalt des Edukts **65** ausfällt und damit die Bestimmung der Halbwertszeit zu höheren Werten verfälscht. Da die absolute Absorption des Nebenprodukts jedoch geringer ausfällt, wird vermutet, dass die Verfälschung der Halbwertszeit nicht zu stark vom wahren Wert abweichen sollte.

Ähnliche Beobachtungen konnten auch bei der Photolyse des MeNV-ADPRs bei einer Wellenlänge von 405 nm gemacht werden (siehe **Abb. 6.38**). Ebenso wie bei der Photolyse bei 365 nm nahm die Intensität des Eduktpeaks bei 10.5 min mit der Zeit ab und der neu gebildete ADPR **1** Peak nahm zu. Dafür wurde eine Halbwertszeit von 13.4 s ermittelt, die erwartungsgemäß höher als die der Photolyse bei 365 nm ist, da die Photogruppe weniger von der 405 nm Strahlung absorbiert und somit weniger Photolysereaktionen induziert werden. Doch auch bei dieser Photolysereaktion zeigen die UV-Absorptionsspektren des Eduktpeaks bei 10.5 min eine Änderung des allgemeinen Absorptionmusters mit zunehmender Bestrahlungsdauer, weshalb hier ebenfalls von der Bildung eines Nebenprodukts ausgegangen wird, dessen Peak sich mit dem des Edukts überlagert. Auffällig dabei ist, dass sich in den normierten Spektren das Absorptionmuster bei Wellenlängen über 280 nm bei den Photolysezeitpunkten 5 s und 10 s, welche identische UV-Absorptionsspektren zeigen, schon signifikant von dem charakteristischen Absorptionmuster der Photogruppe unterscheiden. Dies lässt die Vermutung aufkommen, dass bereits nach 5 s Bestrahlungsdauer der Großteil des Edukts photolysiert wurde und dadurch wenig Einfluss auf das Absorptionmuster zu diesen Zeitpunkten nimmt. JESCHIK beschreibt für den relativen Vergleich der Halbwertszeiten der Wellenlängen 365 nm und 405 nm zur Abspaltung einer MeNV-Gruppe an Nucleotiden eine fünffach höhere Halbwertszeit für Photolysen bei 405 nm.^[108] Angesichts der zuvor bestimmten Halbwertszeit von 3.3 s bei 365 nm für das MeNV-ADPR **69** entspricht der relative Unterschied zur Halbwertszeit von 13.4 s in etwa den Erwartungen. Jedoch sind beide Ergebnisse durch die Entstehung von Nebenprodukten

verfälscht, weshalb diese Ergebnisse nicht für eine absolute Bestimmung, sondern lediglich für einen relativen Vergleich der Halbwertszeiten untereinander ausreicht.

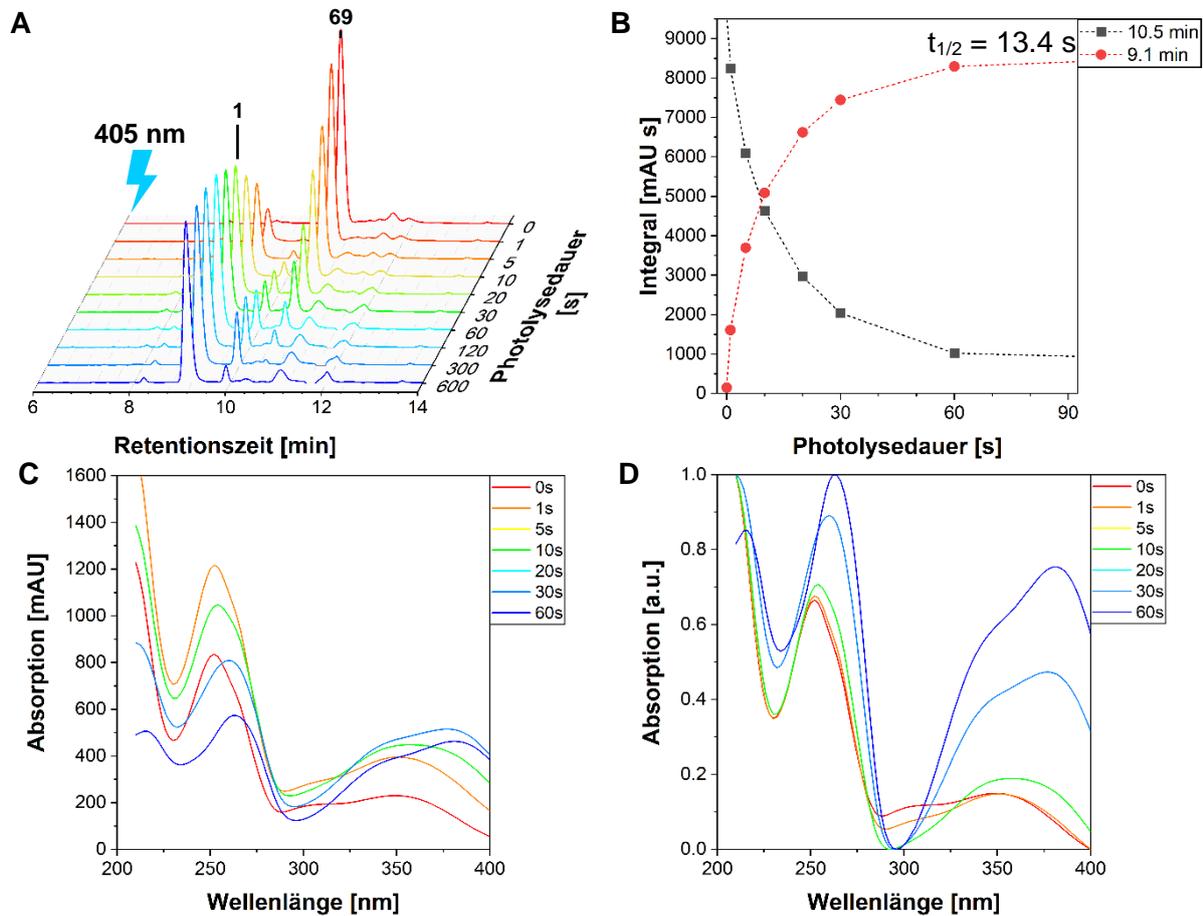


Abb. 6.38: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-ADPRs **69** bei 405 nm. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 5**). **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 10.5 min zu den jeweiligen Zeitpunkten. **D:** Normierte Darstellung der UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 10.5 min zu den jeweiligen Zeitpunkten.

Das MeNV-dADPR **71** wurde ebenfalls jeweils einmal bei 365 nm und 405 nm photolysiert. Die Ergebnisse der Photolyse bei 365 nm sind in **Abb. 6.39** dargestellt. Das Edukt **71** weist bei der HPLC-Analyse eine Retentionszeit von 10.0 min auf und zeigt im UV-Absorptionsspektrum die charakteristische nucleosidische Absorption sowie über 300 nm das für Photogruppen typische Absorptionsmuster. Nach Beginn der Photolyse nimmt die Intensität des Peaks des Edukts **71** ab und es wird ein neuer Peak bei 8.6 min gebildet, welcher dem Photolyseprodukt dADPR **2** zugeordnet wird. Die Freisetzung dessen erfolgt mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 4.5$ s und liegt damit sogar höher als der Wert der 365 nm-Photolyse des MeNV-ADPR **69**. Die *caged* Derivate **69** und **71** unterscheiden sich lediglich in der 2'-Hydroxygruppe des AMPs, die weit entfernt vom reagierenden Zentrum der Photogruppe liegt, weshalb für beide Photolysen bei gleicher Wellenlänge auch ein ähnlicher Wert für die Halbwertszeiten erwartet wird. Auch bei dieser Photolyse findet eine Verfälschung der Halbwertszeit durch Bildung eines Nebenprodukts statt, das gleichzeitig mit dem Edukt eluiert,

wie es durch den Vergleich der UV-Absorptionsspektren des Edukts bei verschiedenen Photolysezeitpunkten deutlich wird. Bei den normierten UV-Absorptionsspektren wird bereits ein deutlich anderes Absorptionsmuster nach einer Photolysezeitdauer von 5 s erkennbar, weshalb bereits zu diesem Zeitpunkt die Photolyse des Edukts zum überwiegenden Teil stattgefunden haben muss. Dies wird ebenfalls bestätigt, da das Integral des Photolyseprodukts nach 5 s Bestrahlungsdauer über 80% des Maximalwerts beträgt. Dementsprechend ist die bestimmte Halbwertszeit auch nur bedingt für einen Vergleich mit anderen Photolysen geeignet, trotz dessen konnte die erfolgreiche Photolyse des MeNV-dADPRs **71** bei 365 nm gezeigt werden.

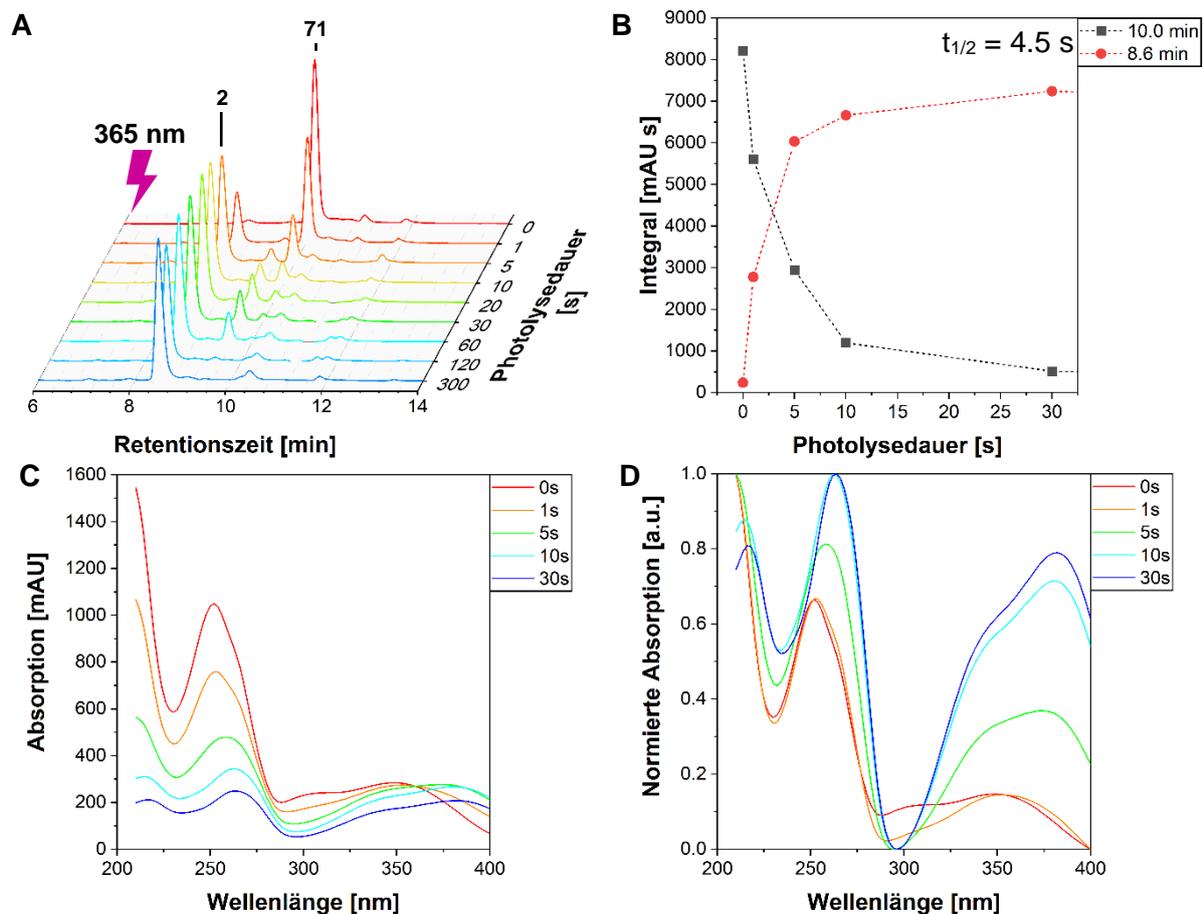


Abb. 6.39: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-dADPRs **71** bei 365 nm. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 6**) **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 10.0 min zu den jeweiligen Zeitpunkten. **D:** Normierte Darstellung der UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 10.0 min zu den jeweiligen Zeitpunkten.

Ähnliche Ergebnisse werden bei der Photolyse des MeNV-dADPRs **71** bei 405 nm erhalten (siehe **Abb. 6.40**). Die Intensität des Eduktsignals nimmt nach Beginn der Photolyse kontinuierlich ab und der mit dADPR **2** assoziierte Peak bei einer Retentionszeit von 8.5 min wird gebildet. Die berechnete Halbwertszeit beträgt in diesem Fall $t_{1/2} = 8.6$ s und liegt damit deutlich unter dem Wert für die vergleichbare Photolyse des MeNV-ADPRs **69**. Daraus kann geschlossen werden, dass bei dieser Photolyse die Verfälschung der Integralwerte durch das

zusätzlich entstehende Nebenprodukt weniger stark ausfällt. Bei der Betrachtung der normierten UV-Absorptionsspektren kann nach 10 s Photolysedauer ein deutlicher Unterschied der Absorptionsmuster erkannt werden. Zu diesem Zeitpunkt waren bereits 75% des maximalen Produktintegrals zu beobachten, was bei Berücksichtigung der berechneten Halbwertszeit erst bei ca. 13 s Bestrahlungsdauer hätten erreicht werden sollen.

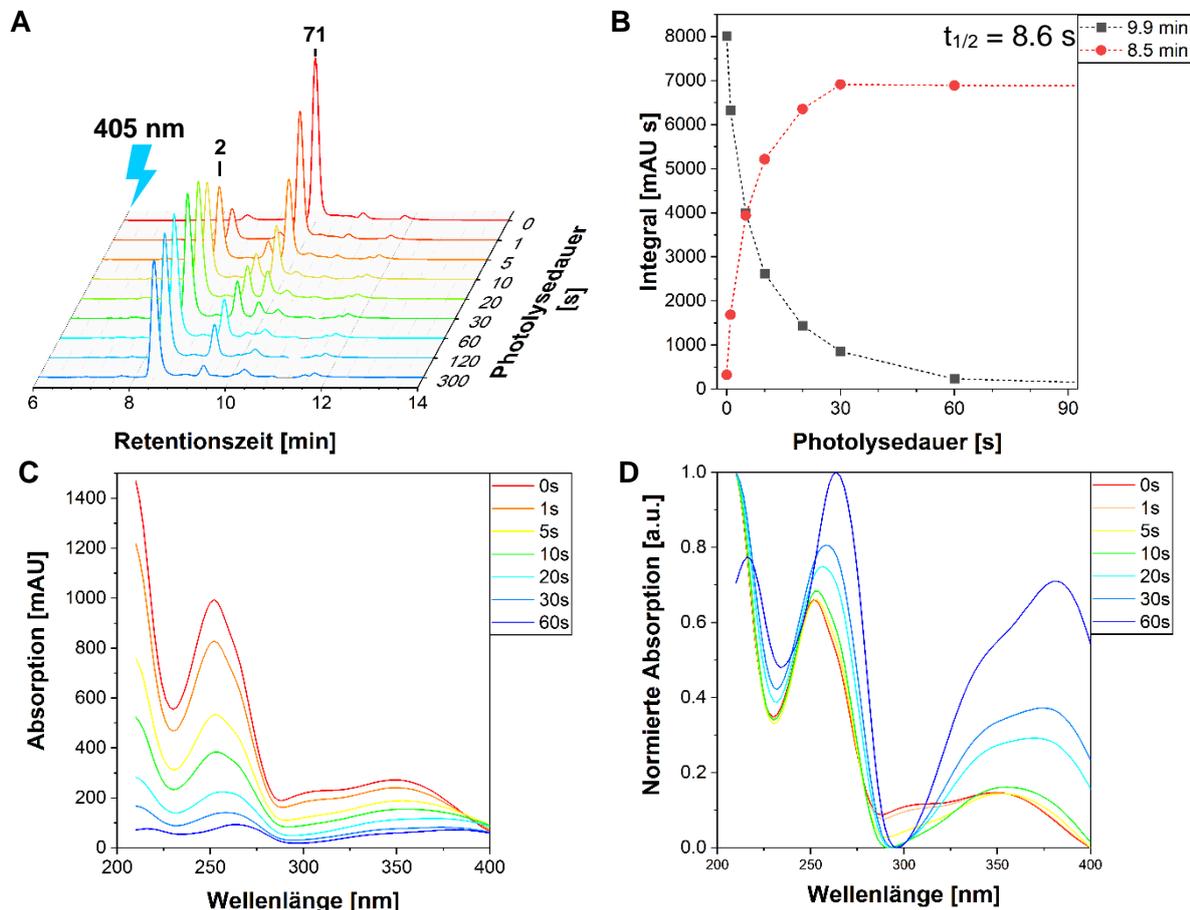


Abb. 6.40: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-dADPRs **71** bei 405 nm. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte. (Vollständiges Diagramm siehe **Anhang 6**). **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 9.9 min zu den jeweiligen Zeitpunkten. **D:** Normierte Darstellung der UV-Absorptionsspektren des Peaks bei einer Retentionszeit von 9.9 min zu den jeweiligen Zeitpunkten.

Mittels der hergestellten Produkte MeNV-ADPR **69** und MeNV-dADPR **71** konnte sowohl bei 365 nm als auch bei 405 nm eine erfolgreiche Freisetzung der ungeschützten Substrate gezeigt werden. Dies erfolgte auch innerhalb weniger Sekunden, eine genaue Bestimmung der Halbwertszeiten war jedoch über diese Methode durch die Überlagerung von Peaks nicht möglich.

6.3 Zweite Generation von bioreversibel-maskiertem *caged* ADPR

Aus den zuvor hergestellten acetylierten und bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivaten **36** - **39** konnte eine erfolgreiche Freisetzung von *caged* ADPR **69** bzw. dADPR **71** beobachtet werden, dessen Hydrolyseprodukte anschließend durch Photolyse bei 365 nm oder 405 nm Bestrahlungswellenlänge zum bioaktiven ADPR **1** und dADPR **2** umgesetzt werden. Die Abspaltung der bioreversiblen Maske erfolgt dabei wesentlich schneller als die Abspaltung der Acetylgruppen. Demnach bietet sich die Synthese eines bioreversibel-maskierten ADPR-Derivats an, welches keine Acetylgruppen aufweist und somit einzig die bioreversible Gruppe vor der Photolyse abgespalten werden muss. Im Folgenden wird die Synthese eines solchen Derivats beschrieben. Zusätzlich sollen die daraus gewonnenen Erkenntnisse zur Totalsynthese von weiteren *caged* ADPR-Referenzsubstanzen dienen, die an dem literaturbekannten *caged* ADPR **34** (siehe Kapitel 4.6) angelehnt sind.

6.3.1 Synthese von bioreversibel-maskiertem *caged* ADPR

Für die Synthese eines nicht-acetylierten maskierten *caged* ADPR-Derivats dienten die acetylierten und maskierten ADPR-Derivate **36** - **39** als Vorlage. Einzig für die Acetylgruppen wurden Silylgruppen gewählt, die nach der erfolgten Kupplung zum Pyrophosphat orthogonal zu den bioreversiblen Maskierungen abgespalten werden können. Dementsprechend wurde das an 2- und 3-Position silylierte *caged* Ribose-Derivat **81** nach der Vorschrift von KOCK analog zur in Kapitel 6.1.3 beschriebenen Synthese mit dem Amidit **44** zum asymmetrischen Amidit **107** umgesetzt (siehe **Abb. 6.41**).^[129]

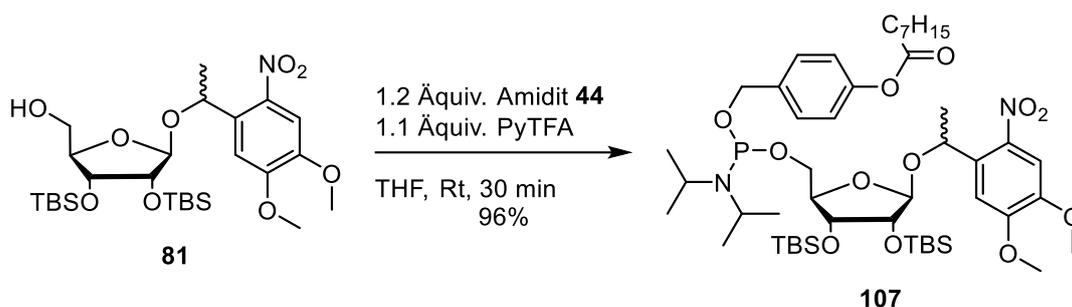


Abb. 6.41: Synthese des asymmetrischen Amidits **107** aus dem Ribose-Baustein **81** und dem Amidit **44**.

Die Reaktion erfolgte ebenfalls durch die Aktivierung mit Pyridiniumtrifluoacetat und die säulenchromatographische Reinigung erfolgte durch Zusatz von Triethylamin im Elutionsmittel. Dabei konnte das Reaktionsprodukt **107** mit einer Ausbeute von 96% als Gemisch aus vier Diastereomeren isoliert werden.

Für die anschließende Kupplung wurden die Triethylammonium-Salze von AMP **40** und dAMP **41** nicht via Kationenaustauschharz, sondern durch Titration der entsprechenden protonierten Monophosphate mit Triethylamin bis pH = 7 hergestellt. Dabei konnte ein höherer

Anteil an Triethylammonium-Ionen erhalten werden, 1.6 Äquiv. Triethylammonium für AMP **40** und 1.5 Äquiv. Triethylammonium für dAMP **41**. Dieser erhöhte Anteil der lipophilen Kationen hatte eine verbesserte Löslichkeit der Monophosphate in DMF zur Folge. Für die Kupplung wurde das asymmetrische Amidit **107** in DMF gelöst und mit den Monophosphaten **40** bzw. **41** versetzt (siehe **Abb. 6.42**).

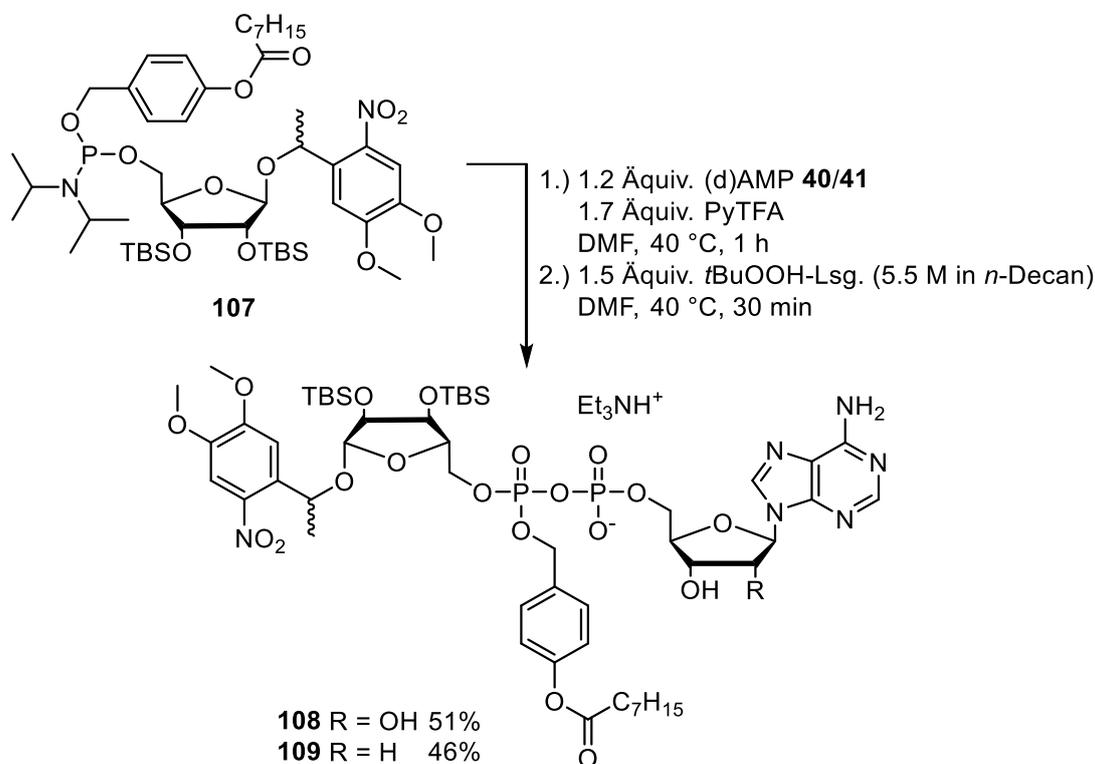


Abb. 6.42: Synthese der silylierten bioreversibel-maskierten *caged* Derivate ADPR **108** und dADPR **109** aus dem asymmetrischen Amidit **107** und AMP **40** bzw. dAMP **41**.

Wichtig dabei war, dass abgewartet wurde, bis sich das Monophosphat vollständig gelöst hatte. Es wird vermutet, dass die restlichen Äquivalente der Gegenionen der Monophosphate Protonen sind, die bereits beim Lösen die Kupplung induzieren können. Erst nachdem eine klare Lösung erhalten wurde, erfolgte die Zugabe des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat sowie eine Stunde später *tert*-Butylhydroperoxid. Nach der anschließenden RP-säulenchromatographischen Reinigung konnten die Kupplungsprodukte **108** und **109** als Triethylammonium-Salze mit Ausbeuten von 51% bzw. 46% erhalten werden. In **Abb. 6.43** sind Ausschnitte der ^{31}P -NMR-Spektren der beiden Reaktionsprodukte **108** und **109** dargestellt. Die Signale weisen die charakteristische chemische Verschiebung für Diphosphat-Verbindungen in den ^{31}P -NMR-Spektren auf. Zusätzlich sind die Signale der einzelnen Phosphatgruppen des Pyrophosphats in einzelnen Signalgruppen aufgeteilt. Durch die erhaltenen vier Diastereomere ist eine genaue Analyse der Kopplungsmuster nicht weiter möglich, aber es ist ein deutlicher Unterschied zwischen den Signalen des α -Phosphats sowie den Signalen des chiralen β -Phosphats erkennbar, was ein zusätzliches charakteristisches Merkmal für die maskierten ADPR-Derivate **108** und **109** darstellt.

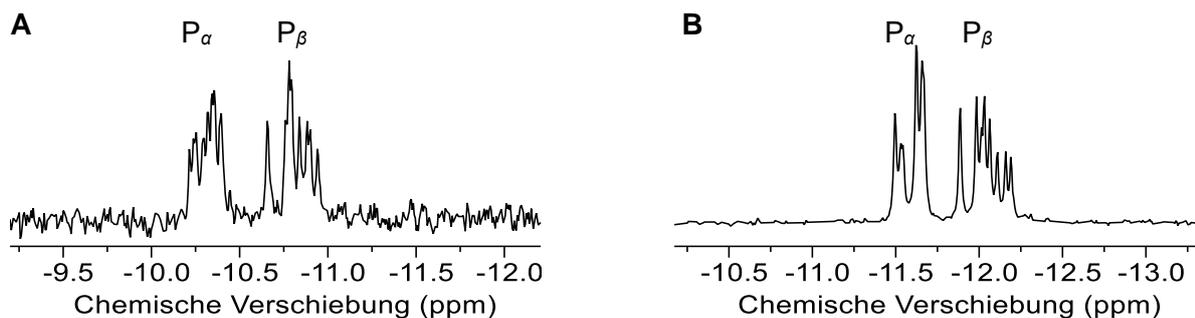


Abb. 6.43: Ausschnitte der ^{31}P -NMR-Spektren der silylierten ADPR-Derivate **108** und **109**. **A:** TBS-OB-MeNV-ADPR **108** (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K). **B:** TBS-OB-MeNV-dADPR **109** (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K).

Die Entschützung der silylierten Hydroxyfunktionen wurde mit verschiedenen Desilylierungsreagenzien untersucht. Darunter bewirkte die Verwendung von TREAT-HF und OLAH's Reagenz (Pyridin Polyhydrofluorid) stets die Degradierung der Phosphoranhydrid-Bindung oder der lipophilen Maske, weshalb angenommen wurde, dass die korrespondierenden Basen in den Desilylierungsreagenzien zu basisch sind. Aus diesem Grund wurde die Entschützung mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) untersucht (siehe **Abb. 6.44**).

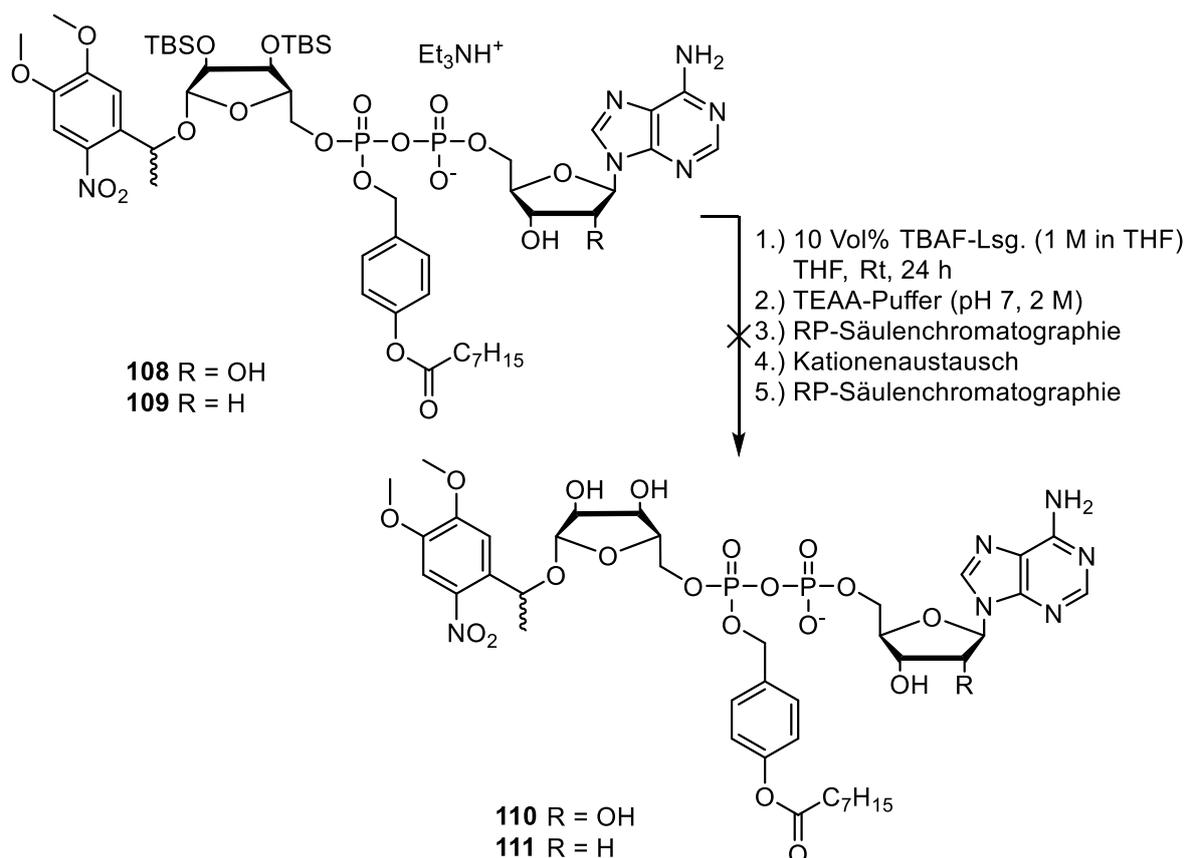


Abb. 6.44: Versuchte Abspaltung der TBS-Gruppen der ADPR-Derivate **108** und **109** mittels TBAF.

Für die Synthese der entschützten Derivate **110** und **111** wurde sich an der Vorschrift von HOGREFE *et al.* zur Desilylierung von geschützten Dinucleotiden orientiert,^[137] indem die silylierten ADPR-Derivate **108** und **109** jeweils in Tetrahydrofuran gelöst und mit einer 1 M Lösung von TBAF in Tetrahydrofuran versetzt wurden. Nach einer Reaktionsdauer von 24 Stunden wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 2 M Triethylammoniumacetat (TEAA, pH 7) Puffer aufgenommen. Es folgte die RP-Säulenchromatographische Reinigung mit anschließendem Kationenaustausch. Nach der abschließenden Reinigung via RP-Säulenchromatographie wurde hauptsächlich das demaskierte MeNV-ADPR **69** bzw. MeNV-dADPR **71** beobachtet, doch es konnte zudem eine Fraktion erhalten werden, indem ein nicht erwartetes Nebenprodukt vorlag. Für beide Reaktionen ausgehend vom ADPR **108** bzw. dADPR **109** wurden von den Nebenprodukten ESI-Massenspektren aufgenommen (siehe **Abb. 6.45 A und B**).

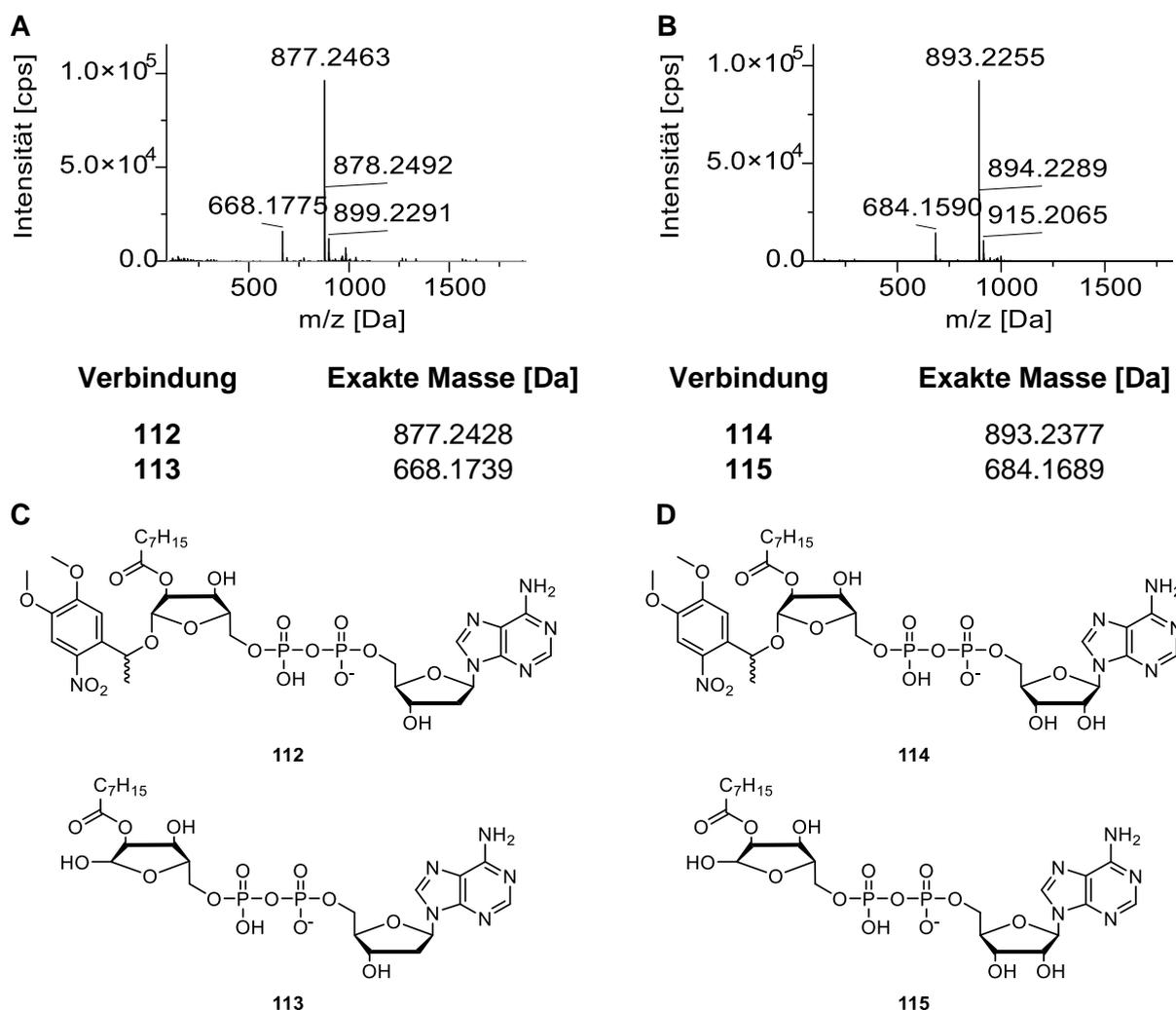


Abb. 6.45: Massenspektrometrische Analyse der Nebenprodukt-Fractionen. **A:** ESI-Massenspektrum des Nebenprodukts aus der Reaktion mit dADPR-Derivat **109** sowie berechnete exakte Massen der vermuteten Strukturen. **B:** ESI-Massenspektrum des Nebenprodukts aus der Reaktion mit ADPR-Derivat **108** sowie berechnete exakte Massen der vermuteten Strukturen. **C:** Vermutete Struktur des Nebenprodukts **112** und dessen Photolyseprodukt **113**. **D:** Vermutete Struktur des Nebenprodukts **114** und dessen Photolyseprodukt **115**.

Dabei konnten für das Nebenprodukt der Entschützung von dADPR **109** eine Masse von 877.2463 Da und für das der ADPR **108** Entschützung eine Masse von 893.2255 Da beobachtet werden. Der Massenunterschied von 16 Da zwischen den beiden Molekulargewichten entspricht dem Sauerstoffatom, welches im ADPR zusätzlich vorliegt und bestätigt damit, dass beide Derivate **108** und **109** vergleichbare Nebenprodukte bilden und der Adenosin- bzw. 2'-Desoxyadenosin-Teil erhalten bleibt. Bei der Berechnung von exakten Massen einiger möglicher Reaktionsprodukte konnten 877.2428 Da für ein dADPR-Nebenprodukt und 893.2377 Da für ein ADPR-Nebenprodukt ermittelt werden, welche den Massen eines Octanoyl-geschützten MeNV-dADPR **112** bzw. MeNV-ADPR **114** entspräche. Zusätzlich wurden noch exakte Massen der Photolyseprodukte der Strukturen **112** und **114** berechnet, die ebenso in den aufgenommenen Massenspektren vorzufinden sind. Da von dem ADPR-Derivat **114** keine für eine NMR-Analyse ausreichende Menge erhalten werden konnte, wurden nur von der dADPR-Fraktion ein- und zweidimensionale NMR-Spektren zur Strukturaufklärung gemessen. Da durch das chirale Zentrum an der Photogruppe zwei Diastereomere erhalten werden und zusätzlich das Photolyseprodukt vorlag, konnte keine exakte Aussage über die Struktur des Nebenprodukts getroffen werden. Zumindest sind im HMBC-Spektrum keine Kopplungen des Aromaten der OB-Gruppe zu erkennen, aber eine 3J -Kopplung zwischen dem Carbonylkohlenstoff der Octanoylgruppe zu einem Riboseproton bei 4.94 ppm konnte beobachtet werden. Dieses Proton weist eine 3J -Kopplung zu einem Kohlenstoffatom mit einer Verschiebung von 81.6 ppm auf, welches im Kontext von ADPR-Derivaten charakteristisch für die 4-Position eines Ribose-Derivats ist. Daraus wird geschlossen, dass das erhaltene Nebenprodukt das in **Abb. 6.45 C** abgebildete 2''-Octanoyl-derivatisierte *caged* dADPR **112** bzw. das entsprechende Photolyseprodukt **113** sein könnte. Da für das ADPR-Derivat **114** keine NMR-Spektren vorlagen, kann hier nicht mit gleicher Sicherheit von dem 2''-Octanoyl-derivatisierten Derivat ausgegangen werden, jedoch liegt das in **Abb. 6.45 C** dargestellte Produkt **114** und das Photolyseprodukt **115** aufgrund der Ähnlichkeit der beiden silylierten Edukte **108** und **109** nahe. Diese Erkenntnisse lassen auf die Vermutung schließen, dass bei den gewählten Reaktionsbedingungen eine intramolekulare Umesterung vom phenylischen Ester zur Hydroxyfunktion der Ribose erfolgt. Das daraus gebildete Phenolat wird spontan eliminiert und gibt das Pyrophosphat frei. Der gebildete Octanoylester wird anschließend entweder noch in der Reaktion oder bei der Aufarbeitung hydrolysiert, weshalb hauptsächlich die unmaskierten *caged* ADPR und dADPR-Derivate **69** und **71** beobachtet wurden. Dementsprechend scheint die verwendete Octanoyloxybenzyl-Gruppe für diese Art der Entschützung zu labil zu sein, weshalb eine lipophile Maskierung mit stabilerer Funktion nötig ist. Dies kann durch die entsprechenden Carbonate der AB-Gruppen (Alkylcarbonatbenzyl, ACB) erreicht werden, weshalb eine Wiederholung der

Entschützungsreaktion eines ADPR-Derivats durchgeführt werden sollte, welches eine solche ACB-Maske am Pyrophosphat trägt.

Hierfür wurde das zum Amidit **44** analoge Carbonat-Amidit **116** ausgehend vom 4-Hydroxybenzylalkohol **49** und dem Heptylchlorformiat **117** hergestellt (siehe **Abb. 6.46**).

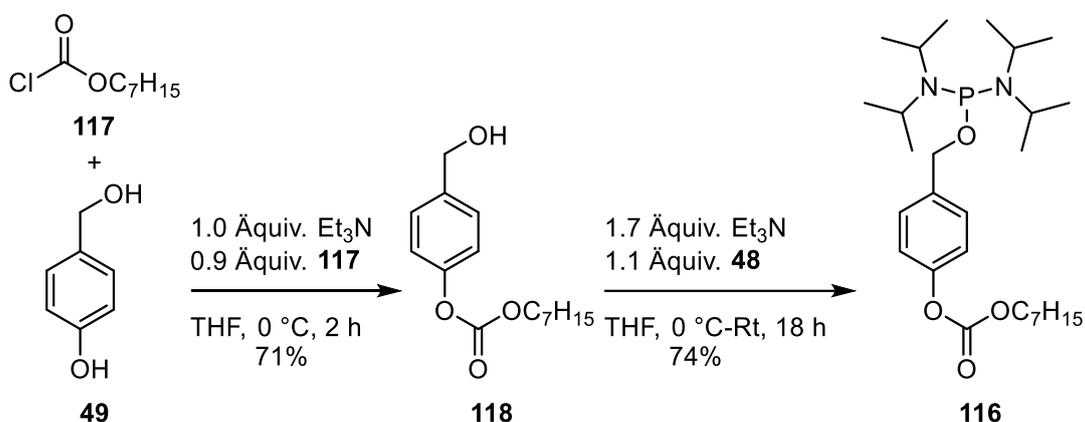


Abb. 6.46: Synthese des Carbonat-Amidits **116** aus dem Carbonat-Derivat **118**, welches zuvor aus dem Benzylalkohol **49** und Heptylchlorformiat **117** hergestellt wurde.

Die Reaktion des Chlorformiats **117** und des Benzylalkohols **49** erfolgte hierbei nach der Vorschrift von GOLLNEST bevorzugt zum phenylischen Carbonat-Derivat **118** mit einer Ausbeute von 71%, die vergleichbar mit den von GOLLNEST erzielten Ausbeuten für Carbonat-Masken ist.^[121] Die anschließende Reaktion zum Carbonat-Amidit **116** erfolgte analog zu der in Kapitel 6.1.1 vorgestellten Synthese des Amidits **44** durch den Einsatz des *N,N*-Diisopropylaminchlorphosphins **48** mit einer Ausbeute von 74%.

Das erhaltene Amidit **116** wurde via Pyridiniumtrifluoracetat-vermittelter Kupplungsreaktion mit dem silylierten *caged* Ribose-Derivat **81** zum asymmetrischen Amidit **119** umgesetzt (siehe **Abb. 6.47**).

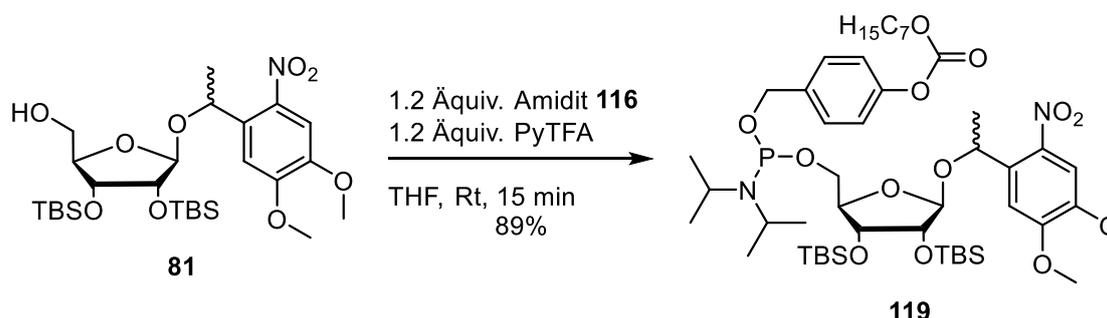


Abb. 6.47: Reaktion des *caged* Ribose-Derivats **81** mit dem symmetrischen Amidit **116** zum asymmetrischen Amidit **119**.

Die Reaktion erfolgte hierbei analog zu der in diesem Kapitel vorgestellten Synthese des asymmetrischen Amidits **107**. Das gewünschte Produkt konnte mit einer Ausbeute von 89% erhalten werden, welche vergleichbar mit der des OB-Derivats **107** ist.

Das asymmetrische Amidit mit der Carbonat-Maske wurde anschließend durch die Kupplung mit Triethylammonium-AMP **40** (1.6 Äquiv. Triethylammonium) zum silylierten und maskierten ADPR-Derivat **120** umgesetzt (siehe **Abb. 6.48**).

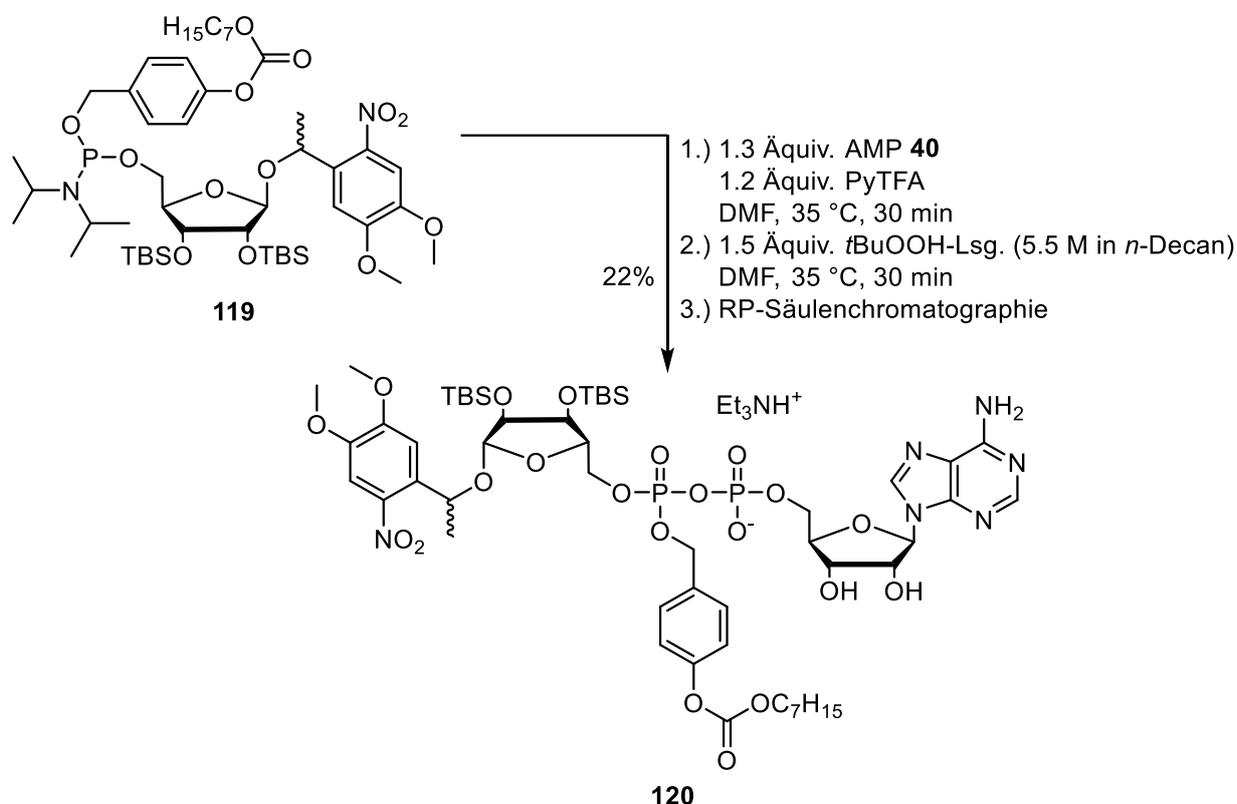


Abb. 6.48: Kupplungsreaktion des asymmetrischen Amidits **119** mit Triethylammonium-AMP **40** zum silylierten ADPR-Derivat **120**.

Die Bildung des Pyrophosphat-Rückgrats erfolgte hierbei wie zuvor beschrieben via einer Zugabe des aciden Aktivators Pyridiniumtrifluoacetat und einer anschließenden Oxidation durch *tert*-Butylhydroperoxid. Nach RP-säulenchromatographischer Reinigung konnte das maskierte ADPR-Derivat **120** als Triethylammonium-Salz mit einer Ausbeute von 22% isoliert werden. Die ermittelte Ausbeute entspricht einem zufriedenstellenden Wert vergleichbar mit den Ausbeuten zwischen 14% und 20% der acetylierten ADPR-Derivate **36** - **39** (siehe Kapitel 6.1.3), die aus einer analogen Kupplungsreaktion erhalten werden konnten.

Die Spaltung der Silylether der Verbindung **120** erfolgte erneut durch Verwendung von TBAF als Desilylierungsreagenz (siehe **Abb. 6.49**), doch diesmal wurde nach der Vorschrift von SMITH *et al.* vorgegangen, in der zusätzlich die basischen Eigenschaften des TBAF durch Zugabe von äquimolaren Mengen Essigsäure neutralisiert wurden.^[138]

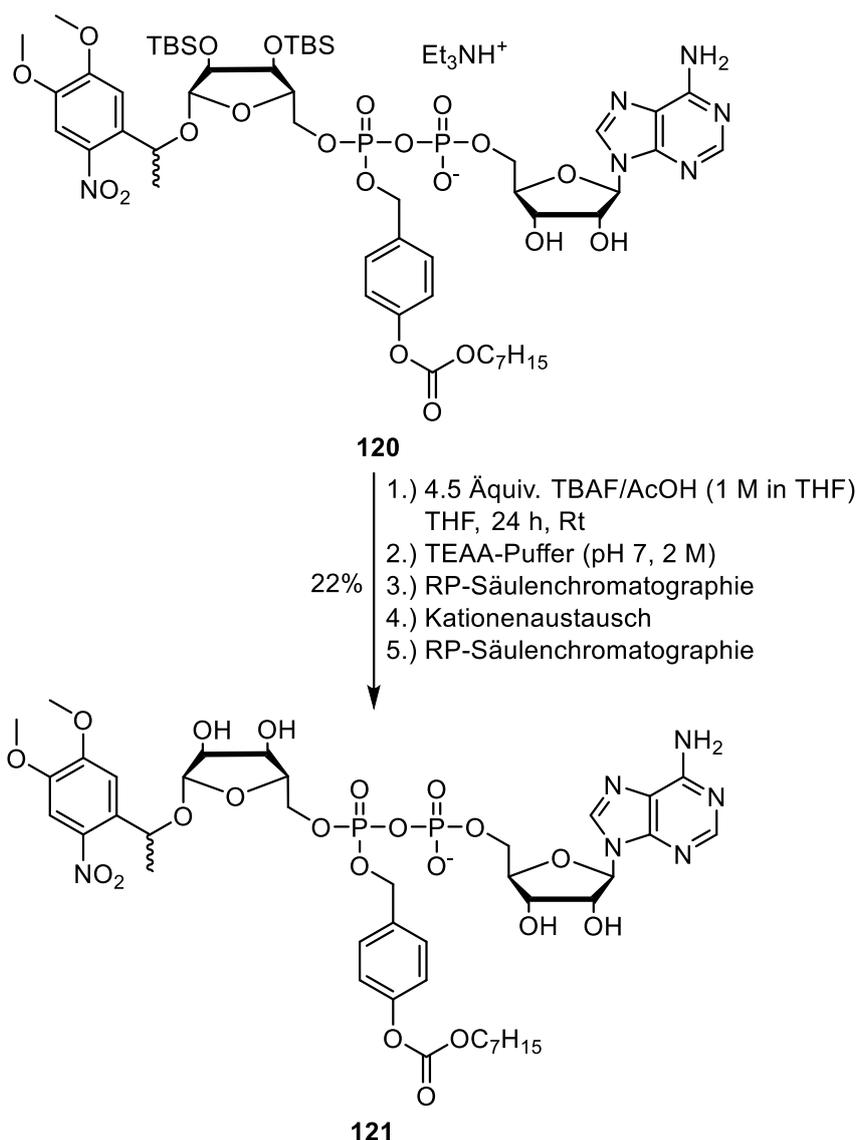


Abb. 6.49: Abspaltung der TBS-Gruppen des geschützten Derivats **120** durch Verwendung von TBAF und Essigsäure zum bioreversibel-maskiertem *caged* ADPR **121**.

Dementsprechend wurde das silylierte Edukt **120** vorgelegt und mit einem Überschuss an TBAF mit Essigsäure versetzt. Nach einer Reaktionsdauer von 24 Stunden wurde das Lösungsmittel entfernt und nach der Vorschrift von HOGREFE *et al.* der Rückstand in TEAA-Puffer (pH 7) aufgenommen,^[137] RP-säulenchromatographisch gereinigt, die Kationen auf Ammonium-Ionen getauscht und abschließend erneut via RP-Säulenchromatographie gereinigt. Dabei konnte das mit einer Carbonat-Maske derivatisierte *caged* ADPR-Derivat **121** als ein Gemisch aus vier Diastereomeren mit einer Ausbeute von 22% erhalten werden. Als Vergleichswert für die Ausbeute wird die von RUTHENBECK beschriebene Synthese des zweifach OB-maskierten dADPR-Derivats **16** aus dem zweifach silylierten Derivat **18** (siehe Kapitel 4.5) herangezogen, welche mit einer Ausbeute von 25% einen ähnlichen Wert beschrieb, das Produkt jedoch nur verunreinigt erhalten hatte.^[99] Trotz dessen kann die erhaltene Ausbeute als erstes Indiz für eine Labilität der Zielverbindung **121** angesehen werden.

Experimente an dem maskierten ADPR-Derivat **121**, die die Freisetzungsgeschwindigkeit gegenüber chemischer oder enzymatischer Hydrolyse sowie anschließender Photolyse untersuchen, werden abschließend im Kapitel 6.5 beschrieben.

6.3.2 Photolabile Maskierung des β -Phosphats von ADPR

Die Erkenntnisse des vorigen Kapitels zur Synthese von β -maskierten ADPR-Derivaten ohne weitere Schutzgruppen an den Hydroxygruppen der Ribose sollte genutzt werden, um weitere Referenzsubstanzen zu den bisher hergestellten maskierten Derivaten, als auch zu den unmaskierten *caged* ADPR-Derivaten **69** und **71** herzustellen. Allem voran gilt dies für die Synthese einer Referenzverbindung zur literaturbekannten *caged* ADPR-Verbindung **34**, die von YUE *et al.* synthetisiert wurde (siehe Kapitel 4.6).^[120] Dabei handelte es sich um ein Gemisch aus zwei NPE-geschützten ADPR-Derivaten, welche durch eine unspezifische Reaktion entweder am α - oder β -Phosphat durch die photolabile Schutzgruppe geschützt vorlagen. Zu dieser Verbindung soll totalsynthetisch eine Referenzsubstanz **122** hergestellt werden, die nur am β -Phosphat mit einer NPE-Gruppe maskiert ist (siehe **Abb. 6.50**). Das α -Phosphat-maskierte Regioisomer wird hier vernachlässigt, da bereits eines der beiden Regioisomere durch das chirale Phosphat, die chirale Photogruppe und den beiden möglichen Anomeren der terminalen Ribose acht Diastereomere aufweist und somit die erhöhte Komplexität im Gemisch einen Vergleich erschweren kann. Diese Referenzsubstanz soll einen Vergleich der chemischen Stabilität dieser Verbindung zu den *caged* ADPR-Derivaten **69** und **71** ermöglichen. Zusätzlich ist eine Evaluation der Photolysegeschwindigkeiten möglich, in der überprüft wird, ob eine Maskierung des anomeren Zentrums nachteilig gegenüber der Maskierung einer Phosphatgruppe des Pyrophosphats ist. Neben dem P_{β} -NPE-ADPR **122** soll zusätzlich das analoge P_{β} -MeNV-ADPR **123** hergestellt werden (siehe **Abb. 6.50**). Dieses besitzt durch die Substituenten am Aromaten ein Photolyse-induzierendes Absorptionsmaximum bei höheren Wellenlängen. Die Synthese soll einen Vergleich der Photolysegeschwindigkeiten der beiden verwendeten Photogruppen und somit eine valide Aussage über die Wahl der Photogruppe ermöglichen. Die beiden P_{β} -*caged* ADPR-Derivate **122** und **123** sollen durch die Kupplung von AMP **40** mit dem entsprechenden asymmetrischen NPE-Amidit **124** bzw. MeNV-Amidit **125** erhalten werden. Die asymmetrischen Amidite sollten über die Kupplungsreaktion eines silylierten Ribose-Bausteins **126** mit dem entsprechenden *caged* Amidit **127** bzw. **128** erhalten werden.

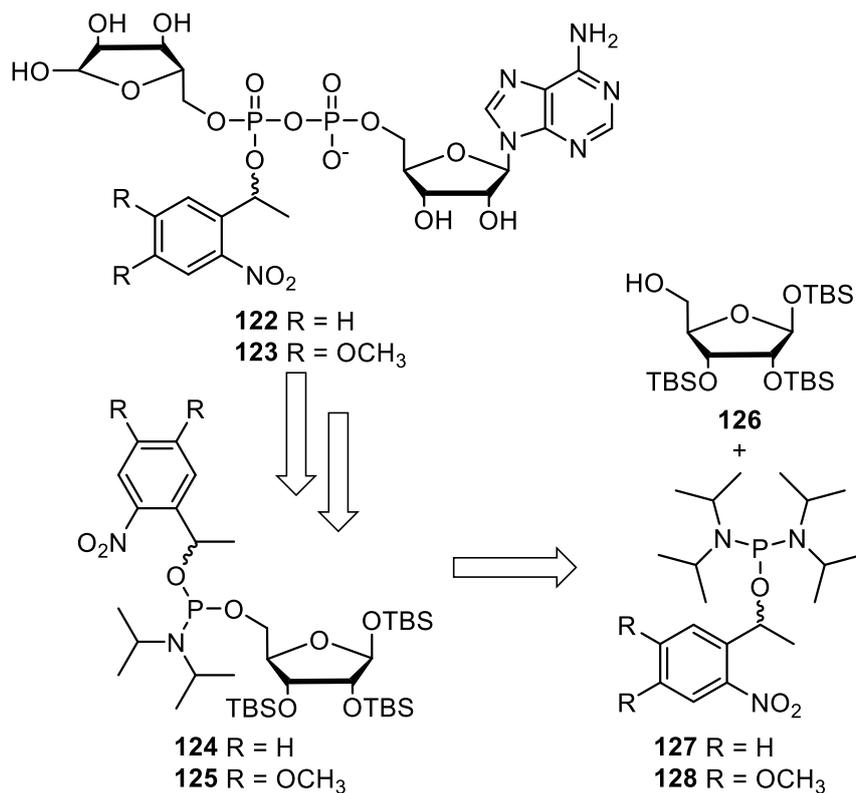


Abb. 6.50: Verkürztes Retrosyntheseschema zur Herstellung der NPE- und MeNV-*caged* ADPR-Derivate **122** und **123**, welche aus den asymmetrischen Amiditen **124** und **125** erhalten werden sollen. Diese sollen zuvor aus dem Ribose-Baustein **126** und den *caged* Amiditen **127** und **128** hergestellt werden.

Für die Synthese der Amidite **124** und **125** musste zunächst der NPE-Alkohol **129** aus dem 2-Nitroacetophenon **130** hergestellt werden (siehe **Abb. 6.51**).

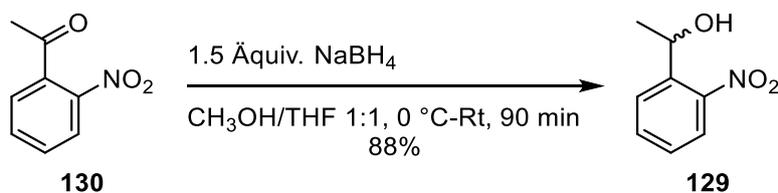


Abb. 6.51: Reduktion des 2-Nitroacetophenons **130** zum NPE-Alkohol **129** durch Einsatz von Natriumborhydrid.

Die Synthese erfolgte analog zu der in Kapitel 6.1.1 vorgestellten Synthese nach der Vorschrift von JESCHIK mit Verwendung von Natriumborhydrid.^[108] Aus dieser Reduktion konnte der NPE-Alkohol **129** mit einer Ausbeute von 88% isoliert werden, welches im Rahmen der Literaturausbeuten für analoge Reduktionsreaktionen liegt.^[108]

Die Synthese der *caged* Amidite **127** und **128** erfolgte analog zu der Vorschrift von JESCHIK durch Reaktion der Alkohole **57** und **129** mit dem kommerziell erhältlichem Chlorphosphin **48**.^[108] Nach einer Reaktionsdauer von 18 Stunden und einer abschließenden säulenchromatographischen Reinigung konnte das NPE-*caged* Amidit **127** mit einer Ausbeute von 81% und das MeNV-*caged* Amidit **128** mit einer Ausbeute von 85% isoliert werden. Die von JESCHIK erzielte Ausbeute für das MeNV-*caged* Amidit **127** entspricht einem geringfügig höheren Wert von 88%.^[108]

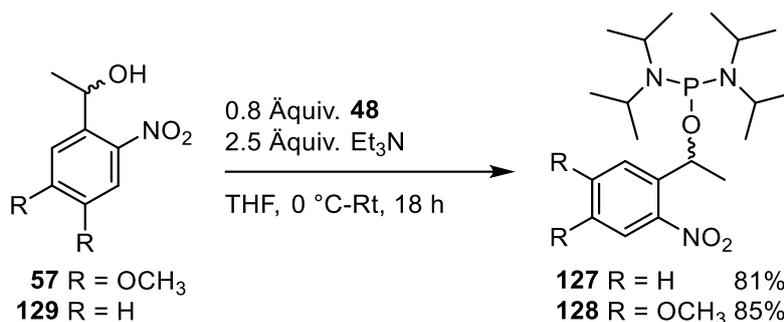


Abb. 6.52: Synthese der symmetrischen *caged* Amidite **127** und **128** aus dem MeNV-Alkohol **57** bzw. dem NPE-Alkohol **129**.

Als nächstes sollte der dreifach silylierte D-Ribose-Baustein hergestellt werden. Hierfür wurde ausgehend von D-Ribose **131** die Syntheseroute von DEROSA *et al.* herangezogen.^[139] D-Ribose **131** wurde mit Tritylchlorid in Pyridin selektiv an der 5-Hydroxygruppe zur Tritylribose **132** trityliert (siehe **Abb. 6.53**). Die Reinigung des Produkts erfolgte durch eine Fällung aus Dichlormethan mit Petrolether, wodurch das Produkt als Gemisch beider Anomere mit einer Ausbeute von 57% isoliert werden konnte. Damit konnte die von DEROSA *et al.* erzielte Ausbeute von 40% deutlich überschritten werden, jedoch wurde in der Literatur ein 20-fach größerer Ansatz verwendet, sodass durch den *scale up* der Reaktion eventuell Unterschiede in den erzielten Ausbeuten möglich sind.

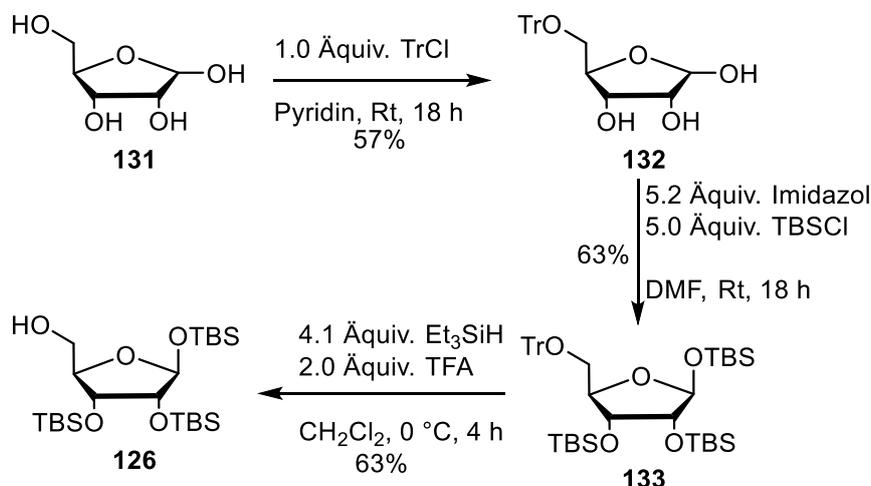


Abb. 6.53: Synthese des silylierten Ribose-Bausteins **126** ausgehend von D-Ribose **131**, bei der nach der Vorschrift von DEROSA *et al.* vorgegangen wurde.^[139]

In der nächsten Stufe wurden die übrigen Hydroxygruppen und das anomere Halbacetal der Tritylribose **132** mit Imidazol und *tert*-Butyldimethylsilylchlorid geschützt. Dabei können sowohl das α - als auch das sterisch bevorzugte β -Anomer gebildet werden. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch gereinigt und das β -Anomer **133** mit einer Ausbeute von 63% isoliert. DEROSA *et al.* geben in der Literatur eine Ausbeute von 86% für das reine β -Anomer **133** an. Da hier die Zugabe der Reagenzien bei Raumtemperatur und in der Literatur bei 0 °C erfolgte, kann vermutet werden, dass die tieferen Temperaturen die sterischen Effekte begünstigen, somit einen höheren Einfluss auf die Selektivität der Anomere nimmt und das β -Anomer **133** mit einer höheren Ausbeute gebildet wird.^[139] Der nächste Reaktionsschritt diente der Abspaltung der Tritylgruppe der Ribose-Verbindung **133** unter Verwendung von Triethylsilan und Trifluoressigsäure. Nach abschließender Reinigung konnte der dreifach silylierte Ribose-Baustein **126** mit einer Ausbeute von 63% erhalten werden. Da DEROSA *et al.* auf eine Isolierung des Produkts verzichteten und das Rohprodukt direkt in der nächsten Reaktion verwendet wurde, steht für diese Reaktion keine Ausbeute zum Vergleich zur Verfügung.^[139]

Anschließend sollten die zuvor hergestellten *caged* Amidite **127** und **128** jeweils mit dem silylierten Ribose-Baustein **126** zu den asymmetrischen Amiditen **124** und **125** umgesetzt werden (siehe **Abb. 6.54**). Die Reaktion erfolgte analog zu den in den vorigen Kapiteln beschriebenen Amidit-Kupplungen durch Verwendung des Aktivators Pyridiniumtrifluoressigsäure. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das asymmetrische NPE-Amidit **124** mit einer Ausbeute von 69% isoliert werden, wohingegen das MeNV-Derivat nicht vollständig gereinigt werden konnte. Die Kupplungsreaktion wurde jeweils mit einem Überschuss des Amidits **125** oder des Ribose-Bausteins **126** durchgeführt, doch in beiden Fällen konnte das Produkt nicht rein isoliert werden. Aufgrund dessen wurde das MeNV-*caged* Amidit **125** nach einer säulenchromatographischen Reinigung direkt weiter umgesetzt. Für den Kupplungsschritt wurden die asymmetrischen Amidite **124** und **125** in DMF gelöst und mit dem Triethylammonium-AMP **40** versetzt. Nachdem sich das Monophosphat vollständig gelöst hatte, wurde Pyridiniumtrifluoressigsäure zugegeben und anschließend mit *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert. Nachdem das Lösungsmittel entfernt wurde, erfolgte die RP-säulenchromatographische Reinigung mit TEAB-Puffer (0.1 M) als wässriges Elutionsmittel. Das silylierte P $_{\beta}$ -NPE-maskierte ADPR **134** konnte mit einer Ausbeute von 63% erhalten werden. Dies entspricht einer Ausbeute von 43% über zwei Stufen, was somit höher als die zweistufige Ausbeute des P $_{\beta}$ -MeNV-maskierten ADPRs **135** ist. Der Unterschied der Ausbeute kann zum Beispiel auf die beim Kupplungsschritt vorhandenen Verunreinigungen zurückgeführt werden. So kann ein nicht abgetrennter Überschuss des symmetrischen Amidits **128** mit dem Monophosphat reagieren und damit die Ausbeute leicht beeinflussen.

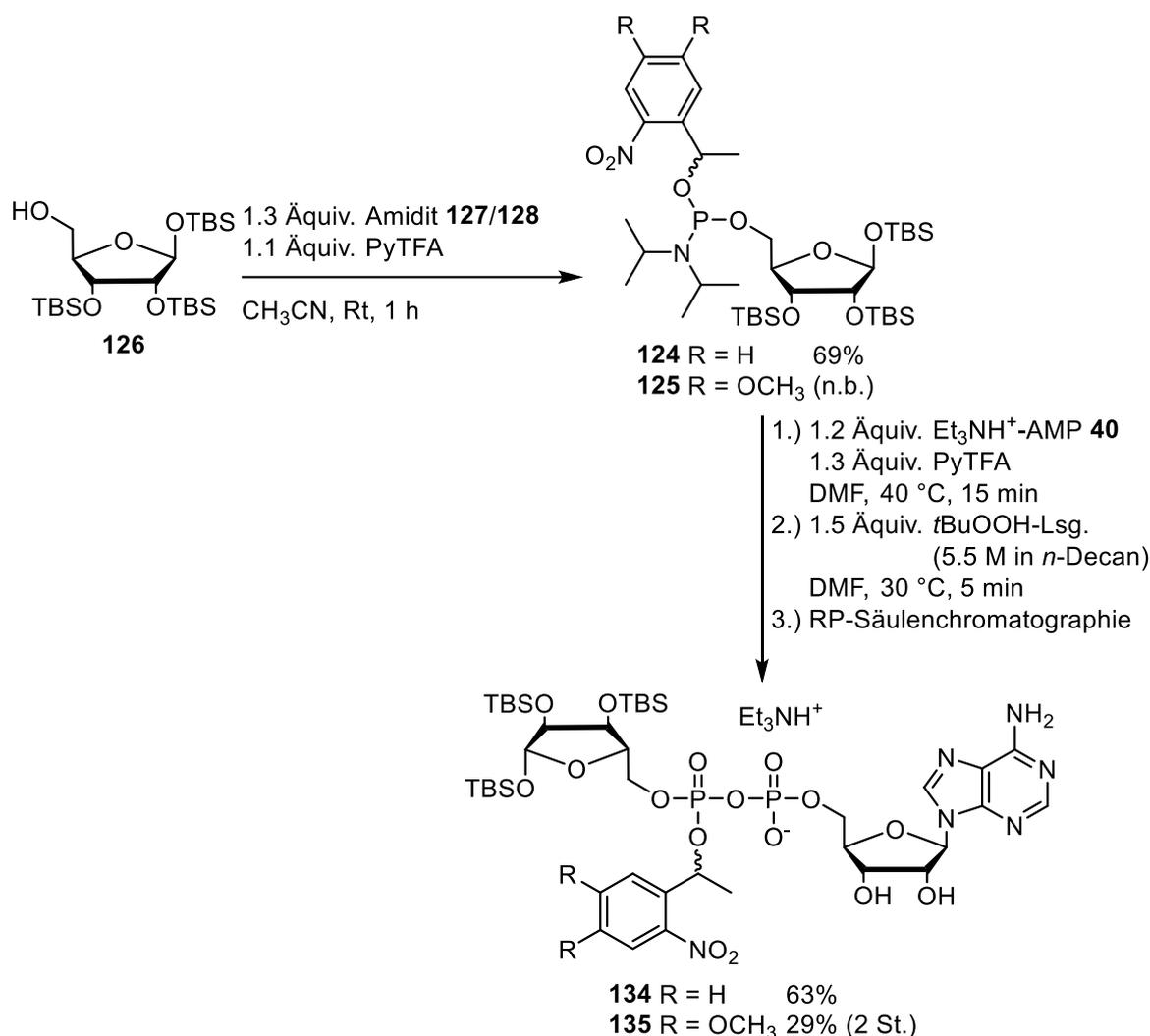


Abb. 6.54: Synthese des silylierten P_β -caged ADPR-Derivats **134** bzw. **135** durch Kupplung von AMP **40** mit den asymmetrischen Amiditen **124** und **125**, nachdem diese aus dem Ribosebaustein **126** und den symmetrischen Amiditen **127** und **128** hergestellt wurden.

Die folgende Abspaltung der drei Silylgruppen der ADPR-Derivate **134** und **135** stellte eine gr\u00f6\u00dfere Herausforderung als noch beim bioreversibel-maskiertem *caged* ADPR-Derivat **120** (siehe Kapitel 6.3.1) dar. Die Abspaltung wurde zuerst am P_β -NPE-ADPR **134** untersucht. Hierf\u00fcr wurde das Edukt **122** in Tetrahydrofuran gel\u00f6st und mit einer 1 M L\u00f6sung von TBAF und Essigs\u00e4ure in Tetrahydrofuran versetzt (siehe **Abb. 6.55**). Nach einer Reaktionsdauer von 24 Stunden wurde das L\u00f6sungsmittel entfernt und der R\u00fcckstand mit TEAA aufgenommen und RP-s\u00e4ulenchromatographisch gereinigt. Die Entsch\u00fctzung wurde mehrmals durchgef\u00fchrt, doch wiederholt konnten nur Produkte einer Spaltung des Pyrophosphats beobachtet werden, nachdem ein Austausch der Kationen auf Ammoniumionen und ein weiterer Reinigungsschritt folgte. Es konnte jedoch einmal das gew\u00fcnschte P_β -NPE-ADPR **122** nach dieser Abfolge von Aufarbeitungsschritten mit einer Ausbeute von 12% erhalten werden, welches trotzdem nur verunreinigt erhalten werden konnte. Es wird vermutet, dass das Produkt eine signifikante Labilit\u00e4t w\u00e4hrend der Reinigungsschritte aufwies, was zu einer Degradation des Produkts **122** f\u00fchrte. Das Produkt konnte auf diese Weise erfolgreich synthetisiert werden und sollte trotz

der Verunreinigungen für die Photolyseexperimente verwendet werden. Für die Entschützung des silylierten MeNV-ADPR-Derivats **135** wurde die Vorschrift abgewandelt, da die zuvor erwähnte Abfolge der Aufarbeitungsschritte stets zur Zersetzung des Produkts führte. Die abgewandelte Spaltung der Silylether erfolgte wie zuvor beschrieben mit TBAF und Essigsäure, doch die Aufarbeitung wurde durch Zugabe eines PBS-Puffers begonnen. Dieser sollte im Gegensatz zum TEAA-Puffer durch einen Überschuss der Natriumionen einen zeitgleichen Kationenaustausch ermöglichen. Auf Basis dieser Vermutung wurde lediglich ein Reinigungsschritt durchgeführt, bei dem das Produkt mit einer Ausbeute von 70% erhalten werden konnte. Diese Ausbeute bezieht sich jedoch auch auf ein verunreinigtes Produkt, da die NMR-spektroskopische Analyse der Produktfraktion zeigte, dass der Austausch der Kationen nicht wie angenommen stattgefunden hatte und noch ein Überschuss an Tetrabutylammoniumionen vorlag. Dieser Überschuss wird mit Phosphat-Salzen aus dem PBS-Puffer begründet, welche die überschüssigen Tetrabutylammoniumionen ionisch gebunden haben und zeitgleich mit dem Produkt eluiert sind. Wie beim Derivat **122** wurde auf weitere Reinigungsschritte aufgrund der vermuteten Labilität des Produkts verzichtet.

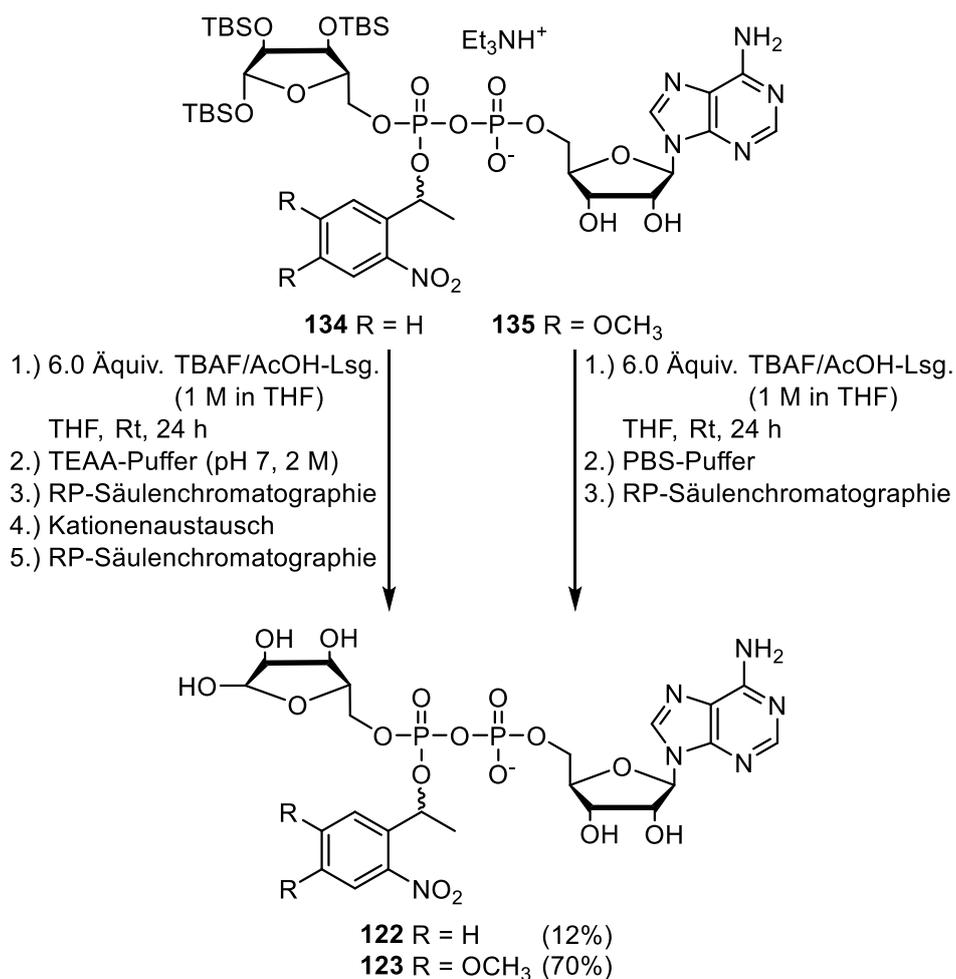


Abb. 6.55: Abspaltung der TBS-Gruppen der ADPR-Derivate **134** und **135**, um die P_{β} -caged ADPR-Derivate **122** und **123** zu erhalten. Die Zielverbindungen **122** und **123** konnten nur verunreinigt erhalten werden.

6.3.3 Photolyseexperimente an P_β-caged ADPR-Derivaten

Beide synthetisierten P_β-caged ADPR-Derivate **122** und **123** sollten trotz vorhandener Verunreinigungen auf ihre Photolyseeigenschaften bei Bestrahlung mit Wellenlängen von 365 nm und 405 nm untersucht werden. Die Ergebnisse der Photolysen des P_β-NPE-ADPRs **122** sind in **Abb. 6.56** dargestellt. In den Chromatogrammen und Integralverläufen der 365 nm-Photolyse ist erkennbar (**Abb. 6.56 A und B**), dass das Edukt bei einer Retentionszeit von 8.2 min eluiert und mit zunehmender Photolysedauer die Intensität des Peaks abnimmt. Dazu wird über Zeit ein neuer Peak bei 9.3 min gebildet, der zum Abschluss der Photolyse der dominante Peak ist und durch Vergleich von Retentionszeiten als ADPR **1** identifiziert werden konnte. Die Photolyse des Edukts **122** verläuft mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 2.1$ s, was vergleichbar mit den zuvor durchgeführten Photolysen von MeNV-maskierten ADPR-Derivaten ist.

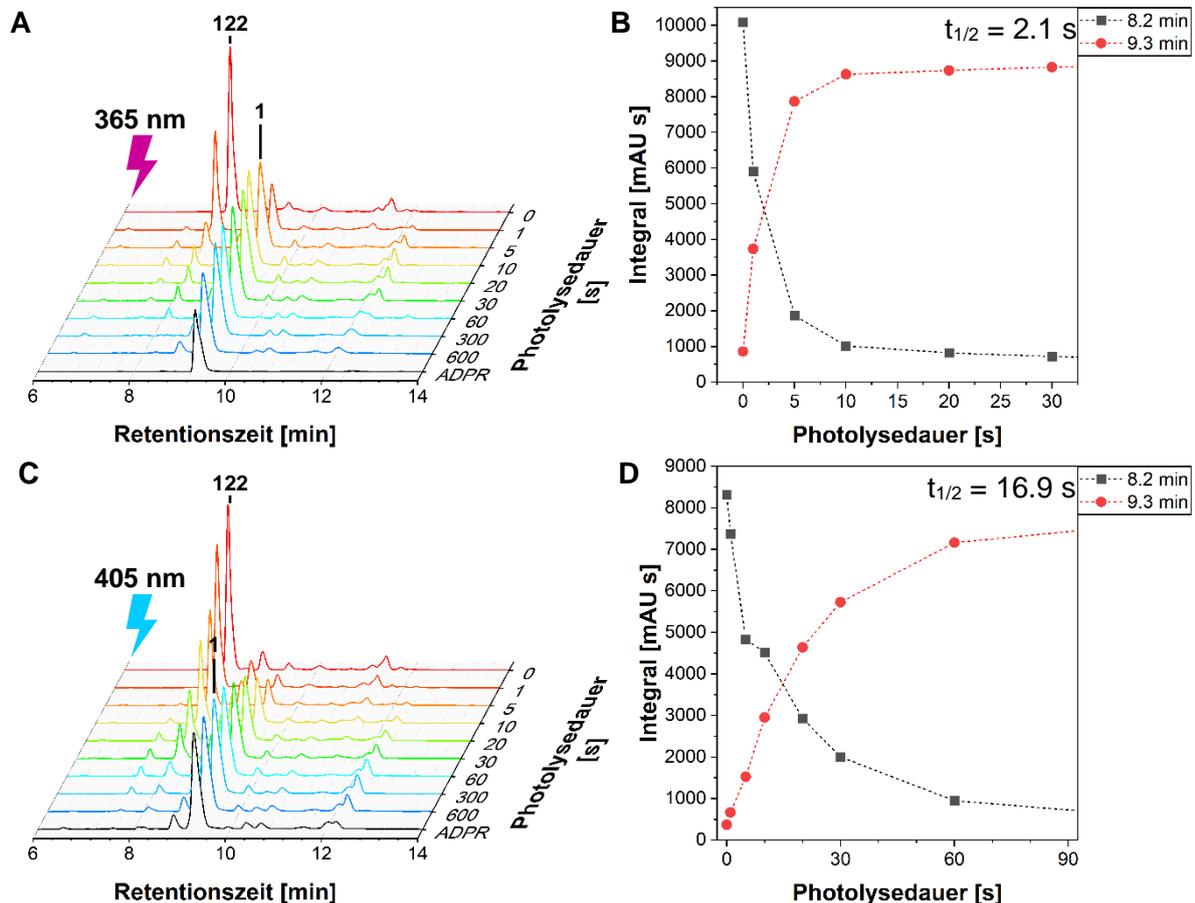


Abb. 6.56: Ergebnisse der Photolysen von P_β-NPE-ADPR **122**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 365 nm. **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 405 nm. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 7**). **D** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale.

Die Photolyse des NPE-Derivats **122** bei 405 nm zeichnet dagegen ein anderes Bild ab (**Abb. 6.56 C und D**). Während der Photolyseverlauf gleich zur Photolyse bei 365 nm verläuft, so ist die Halbwertszeit mit einem Wert von $t_{1/2} = 16.9$ s deutlich langsamer. Dies deckt sich mit den erwarteten Werten, da die NPE-Schutzgruppe mit zunehmender Wellenlänge deutlich weniger Photonen absorbiert. Der hier ermittelte Wert ist zwar näherungsweise mit der Halbwertszeit von 13.4 s für die Photolyse des MeNV-ADPRs **69** zu vergleichen (siehe Kapitel 6.2.5), doch das ist nur bedingt sinnvoll, da der referenzierte Wert nachweislich durch die Entstehung von Nebenprodukten zu höheren Werten verfälscht wird.

Die Ergebnisse der Photolysen des P β -MeNV-ADPRs **123** sind in **Abb. 6.57** dargestellt. Das verwendete Edukt **122** weist zu Beginn der Photolyse bei 365 nm eine Retentionszeit von 8.4 min auf, nimmt jedoch mit zunehmender Photolysedauer an Intensität ab. Durch einen Vergleich von Retentionszeiten konnte der neu gebildete Peak bei 9.4 min als ADPR **1** identifiziert werden.

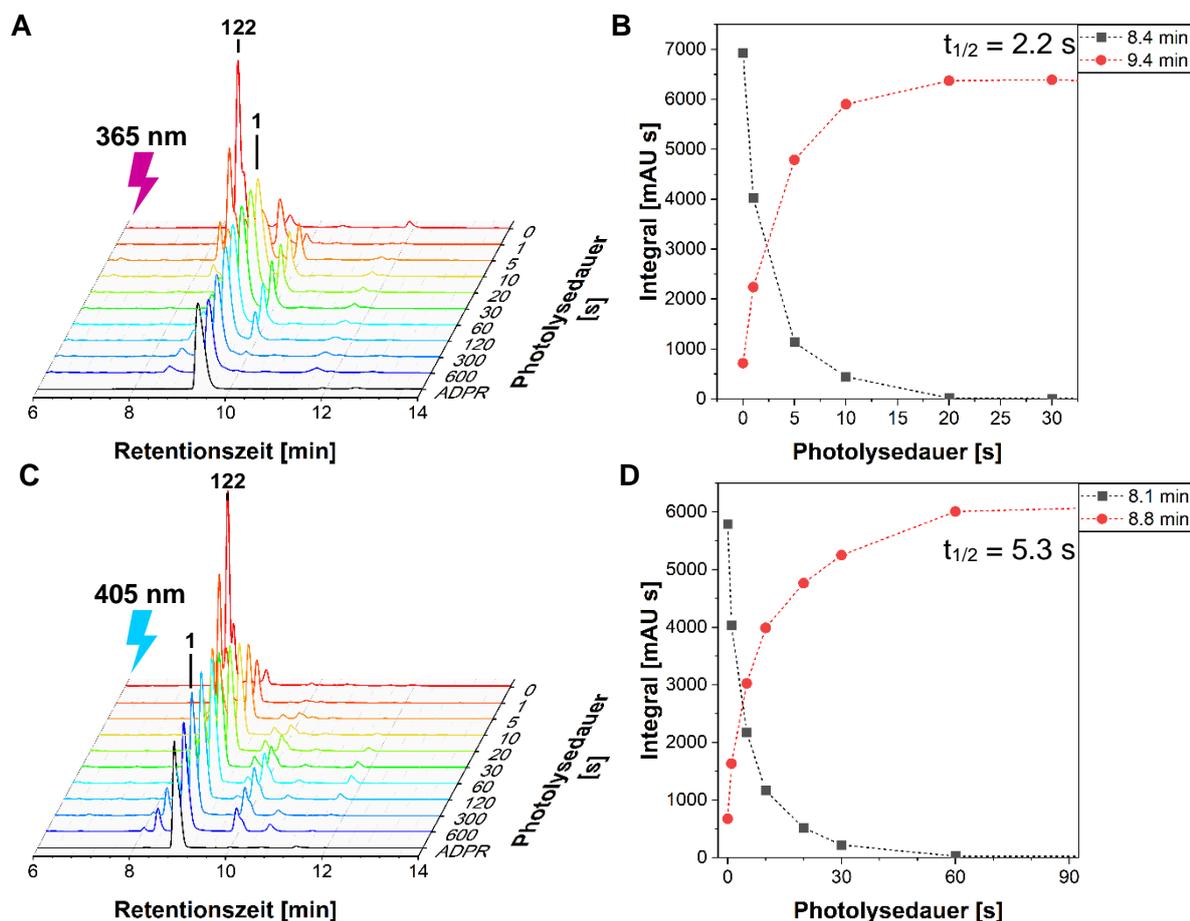


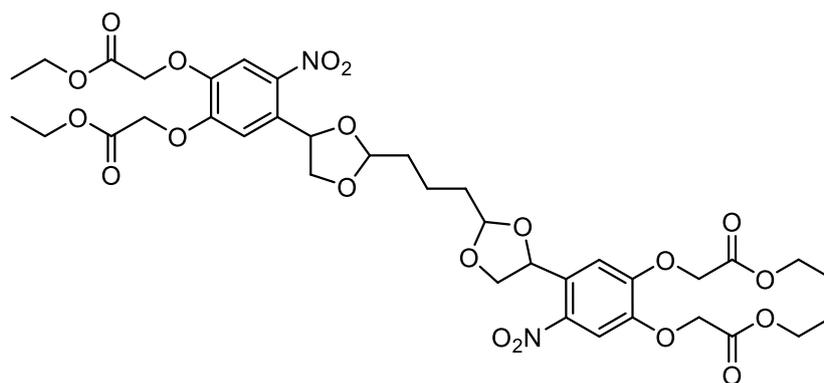
Abb. 6.57: Ergebnisse der Photolysen von P β -MeNV-ADPR **122**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 365 nm. **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 405 nm. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 8**). **D:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale.

Für die Photolyse bei 365 nm wurde eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = 2.2$ s ermittelt, welche demnach mit der des NPE-Derivats übereinstimmt. Aus diesem Ergebnis wird geschlossen, dass zwar weniger Photonen von der NPE-Gruppe bei 365 nm absorbiert werden, diese aber mit höherer Wahrscheinlichkeit eine erfolgreiche Photolysereaktion induzieren, sodass sich die Eigenschaften der NPE- und MeNV-Gruppe bei 365 nm annähern. Im Gegensatz dazu wird das MeNV-Derivat **123** bei 405 nm mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 5.3$ s photolysiert. Damit verläuft die Photolyse der MeNV-Gruppe bei 405 nm ungefähr dreimal schneller als bei der NPE-Gruppe. Es liegt die Vermutung nahe, dass diese Ergebnisse ebenfalls für die durch Nebenprodukte verfälschten Halbwertszeiten der MeNV-Derivate **69** und **71** zutreffen.

Aus diesen Experimenten konnte geschlossen werden, dass die Maskierung der terminalen Ribose durch MeNV-Gruppen keinen signifikanten Nachteil gegenüber der Maskierung des β -Phosphats aufweist. Zudem konnte gezeigt werden, dass die neu entwickelten *caged* ADPR-Derivate **69**, **71** und **123** zwar ähnliche Freisetzungsgeschwindigkeiten bei 365 nm aufweisen, aber deutlich schneller bei 405 nm freigesetzt werden können.

6.4 Dritte Generation von bioreversibel-maskiertem *caged* ADPR

In den vorigen Kapiteln wurde zur bioreversiblen Maskierung von *caged* ADPR-Derivaten auf eine Maskierung der β -Phosphat-Ladung durch eine AB-Gruppe gesetzt. Der daraus resultierende Phosphatriester weist durch die fehlende negative Ladung eine höhere chemische Labilität gegenüber Nucleophilen auf, was die generelle Stabilität des Moleküls sowie die Synthese dessen signifikant beeinflusst. Ein Erhalt der negativen Ladungen des Pyrophosphat-Rückgrats wäre somit vorteilhaft gegenüber der Stabilität zu Lasten der verminderten Polarität, die für eine passive Aufnahme des maskierten Substrats ins Zellmedium nötig ist. Doch das in Kapitel 4.5 vorgestellte TriPPP-Pro-Konzept zeigt, dass mit entsprechender lipophiler Maskierung modifizierte Nucleosidtriphosphate trotz zweier negativer Ladungen noch zellpermeabel sein können.^[121] Dementsprechend ist eine Verfolgung des Ansatzes eines unmaskierten Pyrophosphat-Rückgrats von ADPR angemessen. Als einfach bioreversibel zu maskierendes Zentrum von ADPR wurde von RUTHENBECK bereits die anomere Position der terminalen Ribose ermittelt,^[99] welche bei den hier verwendeten *caged* ADPR-Derivaten bereits von der Photogruppe beansprucht ist. Eine Kombination aus bioreversibler Maskierung und photolabiler Gruppe könnte von Vorteil sein. Ein vergleichbares Konzept wurde bereits von SCHELKLE *et al.* zur photolabilen Maskierung von Glutaraldehyd **136** angewandt (siehe **Abb. 6.58**).^[140] Dabei wurde Glutaraldehyd durch zwei photolabile *ortho*-Nitrophenylethylenglycol-Gruppen als Acetal geschützt. Vergleichbar mit dem Substitutionsmuster der MeNV-Schutzgruppe enthielten diese photolabilen Schutzgruppen zusätzlich zwei Ethersubstituenten, welche aus Oxyacetatestern bestanden.^[140]



136

Abb. 6.58: Von SCHEKLE *et al.* synthetisierter *caged* Glutaraldehyd **136**, dessen photolabile Schutzgruppen zusätzlich bioreversible Ester aufweisen.^[140]

Die Ether sorgen vergleichbar zur MeNV-Gruppe für eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums, doch die angefügten Acetatester stellen zusätzliche Lipophilie-Steigernde bioreversible Gruppen dar. SCHEKLE *et al.* konnten in Modellexperimenten mit PLE eine erfolgreiche Umwandlung des Tetraesters **136** in das entsprechende Tetracarboxylat zeigen.^[140] Diese Abspaltung ermöglicht durch einen „lock-in“-Effekt ein Akkumulieren des hydrolysierten *caged* Glutaraldehyds in Zellen durch die entstehenden Ladungen der Carboxylate. Gleichzeitig konnte eine erfolgreiche Freisetzung des Glutaraldehyds in Photolysereaktionen bei 300 nm aus dem Tetraester **136** gezeigt werden.^[140] Dies bedeutet, dass die Photolysereaktion unabhängig von der enzymatischen Hydrolyse erfolgen kann, sollte diese noch nicht an allen Estergruppen erfolgt sein. Eine Anpassung dieses Konzeptes auf ADPR kann vielversprechend sein, da so weiterhin die photolabile Schutzgruppe an der terminalen Ribose gebunden sein und zusätzlich eine lipophile Maskierung an der PPG die Membranpermeabilität ermöglichen kann. Beinhaltet die lipophile Maskierung eine bioreversible Esterfunktion, kann ähnlich zum *caged* Glutaraldehyd **136** oder *cycloSal*-maskierten Derivaten zweiter Generation (siehe Kapitel 4.5) ein „lock-in“-Effekt erzielt werden.^[79,140] Die Verwendung von zwei bioreversiblen Substituenten an der PPG verzögert die Bildung des komplett hydrolysierten Derivats, weshalb untersucht werden soll, ob einer dieser Substituenten mit entsprechend langer Alkylkette die Lipophilie ausreichend steigert und trotzdem schnell abgespalten werden kann. Anhand dieser Kriterien wurde die Zielstruktur **137** formuliert, welche in **Abb. 6.59** dargestellt ist. Zusätzlich dazu wurde eine weitere Zielstruktur **138** formuliert, welche sich in der Art der lipophilen Maskierung unterscheidet. Während die Struktur **137** nach der Hydrolyse eine Carbonsäure an der PPG aufweist, wird bei der Struktur **138** ein Alkohol erhalten, da die Carbonylfunktion des Esters auf Seite der lipophilen Kette vorliegt. Die in der Verbindung **138** verwendete lipophile Maskierung basiert grundlegend auf dem Prinzip der AB-Maskierung, dessen Ester eine langkettige Carbonsäure enthält. Dies dient als Vergleich zwischen den Derivaten **137** und **138**, inwiefern sich die Hydrolysegeschwindigkeit zwischen den beiden Strukturen verändert.

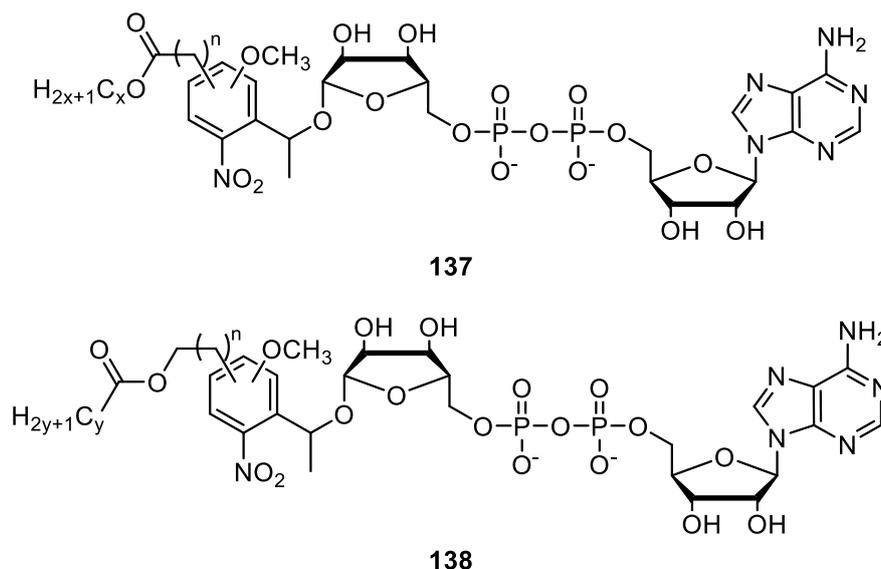


Abb. 6.59: Zielstrukturen **137** und **138** von *caged* ADPR-Derivaten mit bioreversibler Maskierung an der photolabilen Schutzgruppe.

Diese Art der lipophilen Maskierung in der Zielstruktur **138** hätte einen Verlust des verstärkenden „lock-in“-Effekts durch die negative Ladung einer entstehenden Carbonsäure an der Photogruppe zur Folge, was aber eventuell durch kürzere Hydrolysezeiten ausgeglichen werden könnte. Nichtsdestotrotz kann bereits der Verlust der längeren Alkylkette zu einem signifikanten „lock-in“-Effekt führen, weshalb die Seite des Esters in der lipophilen Maskierung eventuell keinen Unterschied für diesen ausmacht. Zudem soll eine Ermittlung des Einflusses der Substituenten auf die Photolysegeschwindigkeiten durch die Variation des Substitutionsmusters untersucht werden, in der beide Zielstrukturen **137** oder **138** den bioreversiblen Ethersubstituenten entweder an der 4-Position und die Methoxy-Gruppe an der 5-Position der Photogruppe oder umgekehrt vorliegen haben.

6.4.1 Syntheseversuch mit MeNV-Acetat

Zuerst sollte in Anlehnung an die von SCHELKLE *et al.* verwendete Photogruppe ein Derivat der Zielstruktur **137** hergestellt werden, welches einen Acetatester als bioreversiblen Substituenten an dem Aromaten der Photogruppe enthält.^[140] Ausgehend vom kommerziell erhältlichem 3-Hydroxy-4-methoxyacetophenon **139** sollte zuerst die Photogruppe **140** hergestellt werden (siehe **Abb. 6.60**). Dafür wurde nach der Vorschrift von SCHELKLE *et al.* das Phenol **139** unter Verwendung von Kaliumcarbonat und Methylbromacetat in DMF zum Ether **141** umgesetzt.^[140] SCHELKLE *et al.* beschreiben für diese Art der Reaktion eine quantitative Ausbeute, auch wenn diese nicht ganz mit dem hergestellten Ether **141** vergleichbar ist, da in der Literatur zwei Etherbindungen am Aromaten gebildet werden.^[140] Die Reaktion zum Produkt **141** erfolgte jedoch mit einer sehr guten Ausbeute von 90%. Anschließend sollte die hergestellte Verbindung **141** in der *ortho*-Position zum Acetylsubstituenten nitriert werden.

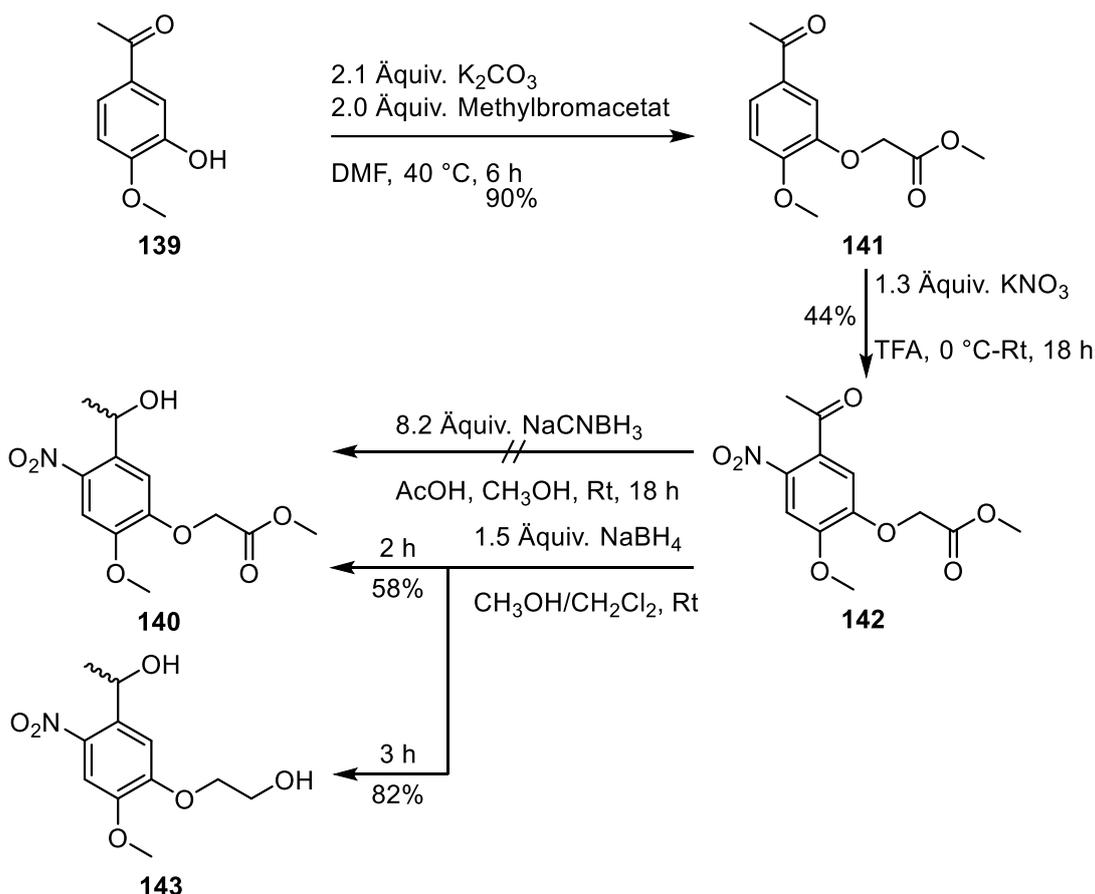


Abb. 6.60: Synthese der Photogruppe **140** ausgehend vom Phenol **139**.

SCHELKLE *et al.* verwendeten hierfür als Nitrierungsreagenzien nicht Salpetersäure, sondern Kaliumnitrat in Trifluoressigsäure.^[140] Die Säure bewirkt die zweifache Protonierung des Nitrats, sodass nach Dissoziation von Wasser und einem Nitroniumion die Nitrierung stattfinden kann. Während SCHELKLE *et al.* für deren Nitrierungsreaktion eine Ausbeute von 79% beschreiben, konnte für das hier beschriebene Produkt **142** lediglich eine Ausbeute von 44% erhalten werden.^[140] Das Produkt **142** konnte nur nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung isoliert werden, da andere Reaktionsprodukte sehr ähnliche Retentionsfaktoren aufwiesen. Da das Lösungsmittel der Reaktion Trifluoressigsäure ist, kann der Ester zudem auch durch saure Katalyse gespalten werden, was ebenfalls zu Verlusten in der Ausbeute führen kann. Die Labilität des Esters wird auch in der folgenden Reaktion deutlich, in der das nitrierte Derivat **142** nach der Vorschrift von JESCHIK durch Reduktion des Ketons mit Natriumborhydrid in den Alkohol **142** umgewandelt wurde.^[108] Während in der Regel Natriumborhydrid nicht in der Lage ist, Ester zu reduzieren, kann dies unter Verwendung eines Überschusses mehrerer Äquivalente in Methanol durchaus auftreten.^[141] Es wird vermutet, dass die Estergruppe des Edukts **142** durch den Akzeptoreffekt des Ethersauerstoffatoms eine höhere Reaktivität gegenüber den verwendeten Reaktionsbedingungen aufweist. Aus diesen Gründen konnte bei der Reduktion stets das vollständig reduzierte Derivat **143** beobachtet werden. Es ist hierbei stets auf den Umsatz zu achten, da die

Ausbeute des gewünschten Alkohols **140** nicht immer reproduzierbar bei 58% lag, sondern oft mehr des primären Alkohols **143** beobachtet werden konnte. Beispielsweise konnten nach drei Stunden Reaktionszeit 82% des vollständig reduzierten Derivats isoliert werden. Zur Vermeidung der Reduktion des Esters wurde außerdem die Reduktion des Ketons durch Verwendung von Natriumcyanoborhydrid mit Essigsäure untersucht, welche jedoch keinen Umsatz des Edukts **142** zur Folge hatte. Dementsprechend scheint die Verwendung von Natriumborhydrid notwendig, eine mögliche Anpassung der Reaktionsbedingungen könnte die Ausbeute des gewünschten Produkts **140** vermutlich verbessern.

Anschließend wurde analog zu der in Kapitel 6.1.2 vorgestellten Glycosylierungsreaktion nach TRZUPEK *et al.* mit anschließender basischer Abspaltung der Benzoylschutzgruppen das *caged* D-Ribose-Derivat **144** hergestellt (siehe **Abb. 6.61**).^[122]

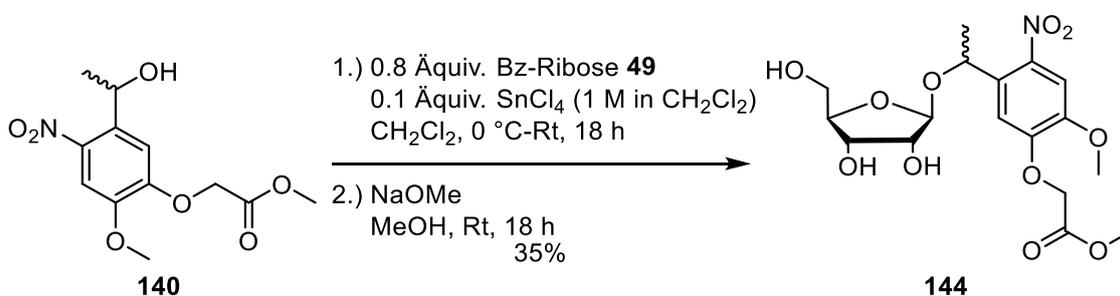


Abb. 6.61: Synthese des *caged* Ribose-Derivats **144** durch die Reaktion vom Alkohol **140** mit dem D-Ribose-Derivat **49** mit anschließender Abspaltung der Benzoylschutzgruppen.

Aus dieser Reaktionsfolge konnte aufgrund der Selektivität der verwendeten Glycosylierungsbedingungen ausschließlich das β -Anomer **144** isoliert und NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden. Das debenzoylierte Derivat **144** konnte mit einer Ausbeute von 35% über die zwei durchgeführten Schritte erhalten werden. Diese Ausbeute ist deutlich geringer als die von TRZUPEK *et al.* beschrieben als auch die in Kapitel 6.1.2 vorgestellten Ausbeuten.^[122] Beide Reaktionsschritte wurden mit vergleichsweise langen Reaktionszeiten durchgeführt, um einen möglichst vollständigen Umsatz zu gewährleisten. Da die Esterfunktion bereits in vorigen Reaktionen eine gewisse Labilität zeigte, wird vermutet, dass die Lewis-Säure einen Einfluss auf die Stabilität des Esters des Edukts **140** oder des Glycosylierungsprodukts nimmt und somit eine Reaktion am Carbonylzentrum mit beispielsweise dem Edukt **140** ermöglicht wird. Der Glycosyl-Donor **49** sollte dementsprechend bei einer Wiederholung der Reaktion im Überschuss vorliegen, um Nebenreaktionen zu vermindern.

Die nachfolgende Reaktion des *caged* Ribose-Derivats **144** ist in **Abb. 6.62** dargestellt. Dabei wurden durch Verwendung von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und Imidazol in DMF alle Hydroxygruppen der Verbindung **144** silyliert und das Produkt **145** mit einer Ausbeute von 84% erhalten.

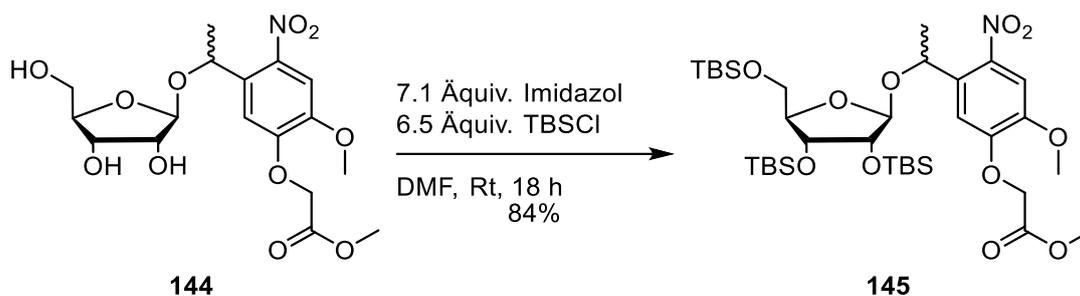


Abb. 6.62: Silylierungsreaktion des *caged* Ribose-Derivats **144** zum vollständig geschützten *caged* Ribose-Derivat **145**.

Im nächsten Schritt sollte durch eine Umesterungsreaktion mit 1-Octanol in Anwesenheit einer Base der Methyl ester **145** in den entsprechenden Octylester **146** umgewandelt werden. Für diese Reaktion wurde sich an einer Vorschrift zur Transcarbamylierung von RHONÉ *et al.* orientiert und die Umesterungsreaktion durch Zugabe des Alkohols mit Kalium-*tert*-butanolat untersucht (siehe **Abb. 6.63**).^[142]

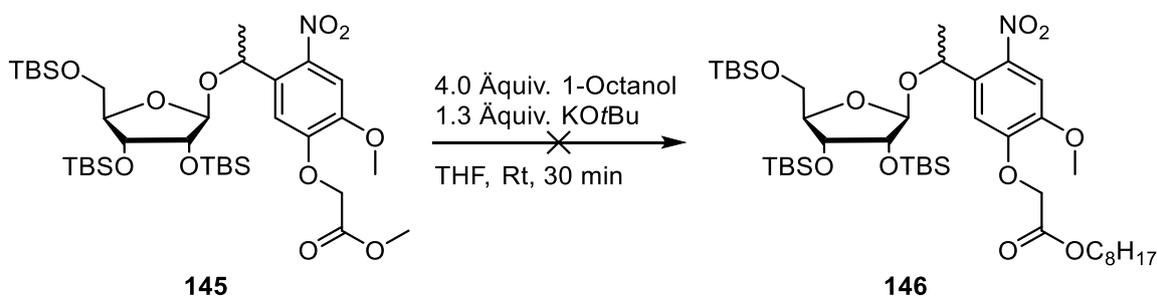


Abb. 6.63: Versuch der Umesterungsreaktion vom Methyl ester **145** zum Octylester **146** durch Zugabe von 1-Octanol und Kalium-*tert*-butanolat.

Dafür wurden zuerst der Methyl ester **145** und 1-Octanol in THF gelöst und bereits direkt nach der Zugabe des Kalium-*tert*-butanolats wurde eine Änderung der Farbe der Reaktionslösung beobachtet. Die charakteristische Gelbfärbung des gelösten *caged* Derivats **145** änderte sich augenblicklich zu einer starken Lilafärbung. Eine dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung zeigte eine Degradation des Edukts **145**. JESCHIK beschrieb bereits, dass 2-Nitrobenzylbromid in stark basischem Medium, hervorgerufen durch Natriumhydrid, zur Deprotonierung der benzylichen Position und daraus zur Entstehung eines Stilben-Derivats führt, welches der Reaktionslösung eine charakteristische Lilafärbung verlieh.^[108] Die Färbung wurde jedoch nicht bei der Deprotonierung des 2-Nitrobenzylalkohols mit Natriumhydrid beobachtet.^[108] Da in diesem Fall die Photogruppe am anomeren Zentrum der D-Ribose vorliegt, wird vermutet, dass die benzyliche Position durch die starke Base Kalium-*tert*-butanolat deprotoniert werden kann und so die Lilafärbung entsteht. Eine Aufarbeitung zur Ermittlung der gebildeten Nebenprodukte erfolgte nicht und der Ansatz wurde nicht weiter verfolgt. Es wird daraus geschlossen, dass eine Umesterung zum längerkettigen Alkylester durch Zusatz von starken Basen nicht sinnvoll ist und dementsprechend eine vorige Spaltung des Methyl esters mit anschließender erneuter Veresterung vielversprechender ist.

Die Verwendung der MeNV-Acetat-Photogruppe **140** führte bereits bei der Synthese dessen und der nachfolgenden Glycosylierung für erhöhten synthetischen Aufwand mit vergleichsweise geringer Ausbeute, was auf die Nähe des Estercarbonyls zur Etherbindung geschlossen wird. Aus diesem Grund soll in einem erneuten Ansatz die bioreversible Funktion mit der Photogruppe kombiniert und die Alkylkette zwischen der Etherbindung und der Estergruppe verlängert werden.

6.4.2 Synthese ausgehend von MeNV-Butyrat

Für eine längere Alkylkette zwischen Esterfunktion und Etherfunktion wurde sich entschieden, die Kette um zwei Methyleneinheiten zu verlängern und somit die Zielstrukturen **137** und **138** ausgehend von den Butanoaten **147** und **148** zu synthetisieren, welche aus den jeweiligen Hydroxyacetophenon-Derivaten **149** und **150** hergestellt werden konnten (siehe **Abb. 6.64**). Die Synthese des 3-Methoxy-Derivats **147** erfolgte analog zu der literaturbekannten Synthese der Verbindung **147** nach der Vorschrift von MISAWA *et al.* und wurde für die Synthese des 4-Methoxy-Regioisomers übertragen.^[143] Hierfür wurde das entsprechende Hydroxyacetophenon-Derivat **149** bzw. **150** mit Kaliumcarbonat deprotoniert und anschließend durch die Reaktion mit Methyl-4-brombutyrat zu den Butanoaten **147** und **148** umgesetzt.

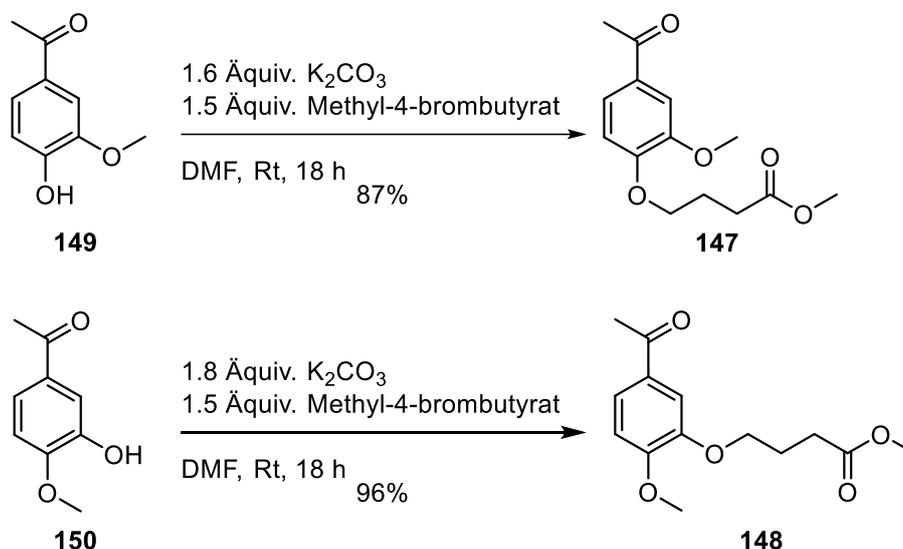


Abb. 6.64: Synthese der Butanoate **147** und **148** ausgehend von den regioisomeren Hydroxyacetophenon-Derivaten **149** und **150**.

Das 3-Methoxy-Derivat **147** konnte mit einer Ausbeute von 87% und das 4-Methoxy-Regioisomer **148** mit einer Ausbeute von 96% erhalten werden. MISAWA *et al.* beschrieben für die Synthese der Verbindung **147** eine Ausbeute von 93%, was vergleichbar mit den erzielten Ausbeuten der Regioisomere **147** und **148** ist.^[143]

Die folgende Nitrierung der Acetophenon-Derivate **147** und **148** zu den Verbindungen **151** und **152** erfolgte ebenfalls nach der Vorschrift von MISAWA *et al.* in einem Gemisch aus Salpetersäure und Essigsäure (siehe **Abb. 6.65**).^[143]

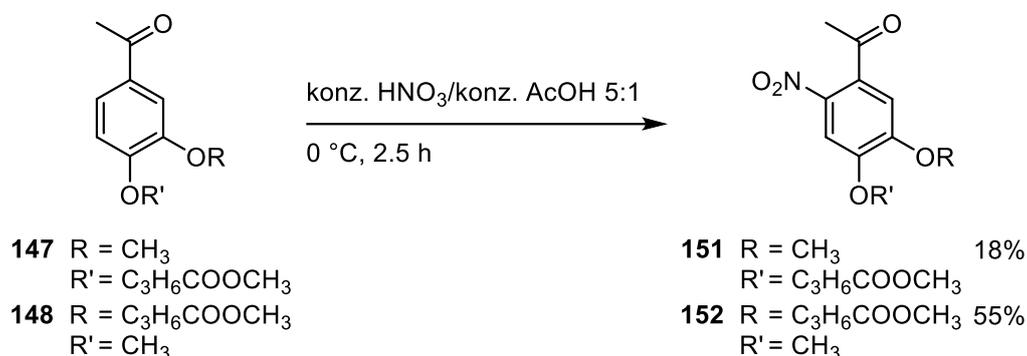


Abb. 6.65: Nitrierung der Acetophenon-Derivate **147** und **148** zu den nitrierten Produkten **151** und **152**.

Nach einer Reaktionsdauer von 2.5 Stunden wurden die Reaktionslösungen in Eiswasser gegeben und die Produkte dadurch gefällt. Während das 4-Methoxy-Derivat **152** mit einer Ausbeute von 55% erhalten wurde, konnte das 5-Methoxy-Regioisomer **151** nur mit einer Ausbeute von 18% isoliert werden, obwohl MISAWA *et al.* für die Synthese dieser Verbindung eine Ausbeute von 69% beschreiben.^[143] Diese Literatursausbeute konnte selbst bei mehreren Ansätzen nicht reproduziert werden. Das Filtrat wurde per Dünnschichtchromatographie untersucht und zeigte noch erheblichen Anteil an Edukt **147** sowie Produkt **151**. Demnach ist der Umsatz nach den beschriebenen 2.5 Stunden nicht vollständig und auch das Produkt konnte nicht vollständig aus der Reaktionslösung gefällt werden. Eine säulenchromatographische Reinigung wurde für das Gemisch nicht durchgeführt, da das Edukt **147** und das Produkt **151** sehr ähnliche Retentionsfaktoren aufwiesen und das Edukt vom geschätzten Verhältnis deutlich überwog. Es ist zudem verwunderlich, warum eine deutlich höhere Ausbeute für das Regioisomer **152** mit den gleichen Reaktionsbedingungen erzielt werden konnte. Eventuell könnte für beide Regioisomere eine längere Reaktionszeit für erhöhten Umsatz und daraus resultierender erhöhter Ausbeute führen jedoch auch die Wahrscheinlichkeit der mehrfachen Nitrierung erhöhen. Diese Vermutung wurde jedoch nicht weiter überprüft, sondern die nitrierten Produkte **151** und **152** in der nächsten Stufe umgesetzt.

In der nächsten Stufe sollten die Carbonylfunktionen der Acetophenon-Derivate **151** und **152** zu den entsprechenden sekundären Alkoholen **153** und **154** reduziert werden. Dies erfolgte analog zu den zuvor vorgestellten Reduktionsreaktionen mit Natriumborhydrid nach der Vorschrift von JESCHIK (siehe **Abb. 6.66**).^[108] In diesem Fall wurde die Reaktion in einem Gemisch aus Methanol und Dichlormethan durchgeführt, um eine gute Löslichkeit der Edukte **151** und **152** zu erreichen. Für beide Regioisomere konnten sehr gute Ausbeuten erzielt werden. Für das 5-Methoxy-Derivat **153** wurde eine Ausbeute von 96% und für das 4-Methoxy-Regioisomer **154** wurde eine Ausbeute von 98% erreicht. Im Gegensatz zur im

vorigen Kapitel 6.4.1 vorgestellten Reduktion des Acetat-Derivats **142** zum entsprechenden sekundären Alkohol **140** konnte keine Reduktion der Esterfunktionen beobachtet werden. Dies bestätigt die Vermutung, dass die Esterfunktion der MeNV-ähnlichen Acetatester im vorigen Kapitel durch die Nähe zur Etherbindung reaktiver ist und dass die Verlängerung der Alkylkette diese Nebenreaktion bei den hier synthetisierten Derivaten unterbindet.

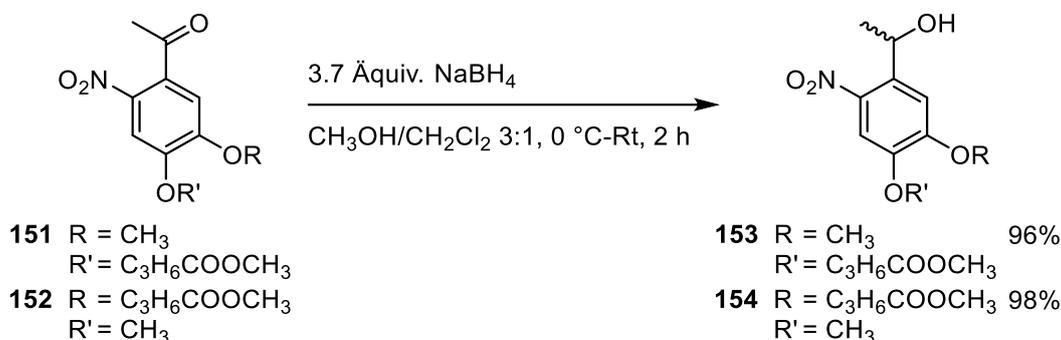


Abb. 6.66: Reduktion der Acetophenon-Derivate **151** und **152** zu den sekundären Alkoholen **153** und **154** unter Verwendung von Natriumborhydrid.

Im folgenden Schritt wurden in Anlehnung an die Vorschrift von TRZUPEK *et al.* die sekundären Alkohole **153** und **154** durch LA-vermittelte Glycosylierung mit anschließender basischer Abspaltung der Benzoylschutzgruppen mit Natriummethanolat zu den *caged* Ribose-Derivaten **155** und **156** umgesetzt (siehe **Abb. 6.67**).

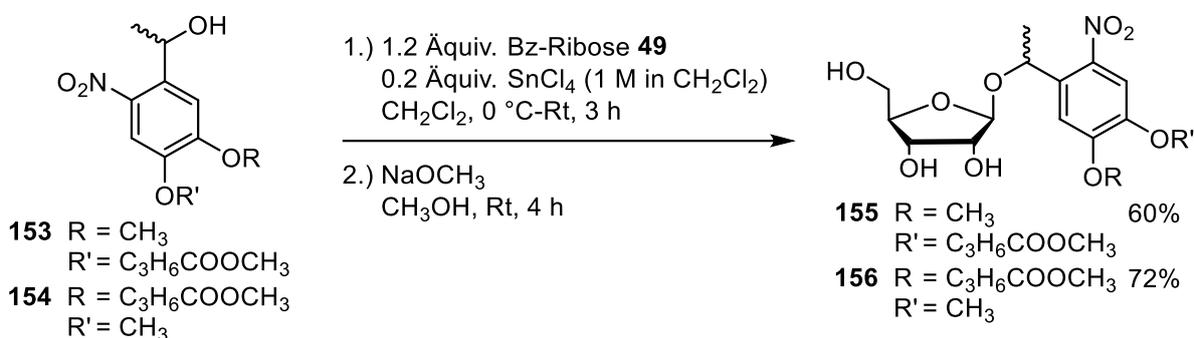


Abb. 6.67: Glycosylierungsreaktionen der sekundären Alkohole **153** und **154** mit anschließender Abspaltung der Benzoylgruppen zu den *caged* Ribose-Derivaten **155** und **156**.

Aus dieser Reaktionsfolge konnte aufgrund der Selektivität der verwendeten Glycosylierungsbedingungen ausschließlich das β -Anomer beider Regiosomere **155** und **156** isoliert und NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden. Es konnte das 5-Methoxy-Regiosomer **155** mit einer Ausbeute von 60% und das 4-Methoxy-Regioisomer **156** mit einer Ausbeute von 72% erhalten werden. Für das MeNV-Ribose-Derivat **42** konnte über die zwei Reaktionsschritte eine Ausbeute von 62% erreicht werden (siehe Kapitel 6.1.2), was mit den erzielten Ausbeuten der Verbindungen **155** und **156** vergleichbar ist. Diese Ergebnisse weisen ebenfalls darauf hin, dass die vergleichsweise geringe Ausbeute der Glycosylierungsreaktion zum Acetat-Derivat **144** durch die Verlängerung der Alkylkette verbessert werden konnte.

Im nächsten Schritt wurden die freien Hydroxygruppen der *caged* Ribose-Derivate **155** und **156** unter Verwendung von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und Imidazol in DMF silyliert (siehe **Abb. 6.68**).

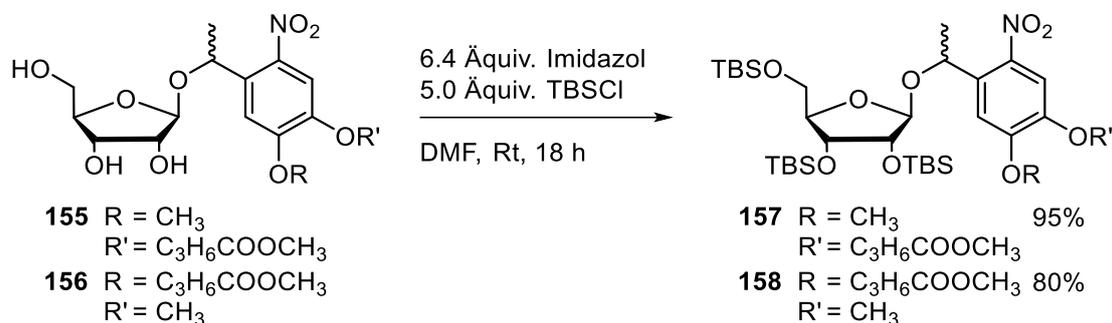


Abb. 6.68: Silylierungsreaktion der *caged* Ribose-Derivate **155** und **156** zu den vollständig geschützten Ribose-Derivaten **157** und **158**.

Die erzielten Ausbeuten von 95% für das 5-Methoxy-Derivat **157** und 80% für das 4-Methoxy-Derivat **158** entsprechen den Erwartungen, da für das Acetat-Derivat **145** unter gleichen Bedingungen 84% (siehe Kapitel 6.4.1) und für die vollständige Silylierung zum MeNV-Ribose-Derivat **87** eine Ausbeute von 66% erreicht werden konnte (siehe Kapitel 6.2.1).

Im Folgenden dienten die beiden Regioisomere **157** und **158** als Ausgangsmaterialien zur Synthese von zwei unterschiedlichen Klassen von bioreversibel veresterten Verbindungen entsprechend der vorgeschlagenen Zielstrukturen **137** und **138**.

In der ersten Syntheseroute wurden die beiden Methylester-Regioisomere **157** und **158** verseift (siehe **Abb. 6.69**). Hierfür wurden die Ester **157** und **158** zuerst in einem Gemisch aus Methanol, Triethylamin und Wasser (2:2:1 v/v/v) gelöst und anschließend mit 1 M Natronlauge versetzt. Ein Umsatz der Edukte konnte erst nach Zugabe der Natronlauge beobachtet werden, weshalb dieses basische Gemisch notwendig zur Spaltung des Methylesters ist. Nach vollständigem Umsatz wurde das Reaktionsgemisch durch Zugabe von Salzsäure auf einen pH-Wert < 1 eingestellt, was zur Abscheidung der Carbonsäuren **159** und **160** führte. Daraus resultierend konnte das 5-Methoxy-Regioisomer **159** mit einer guten Ausbeute von 89% und das 4-Methoxy-Regioisomer **160** mit einer Ausbeute von 85% erhalten werden.

Im nächsten Schritt sollten die Carbonsäuren **159** und **160** mit 1-Heptanol verestert werden (siehe **Abb. 6.69**). Hierfür wurde eine YAMAGUCHI-Veresterung in Anlehnung an die Vorschrift von DEKIERT durchgeführt.^[100,144] Dabei wurden die Carbonsäuren **159** und **160** durch Zugabe von Triethylamin zu den jeweiligen Carboxylaten deprotoniert und durch Zugabe von 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid in ein gemischtes Anhydrid überführt. Durch die anschließende Zugabe von DMAP und 1-Heptanol erfolgte die Estersynthese durch Spaltung des gemischten Anhydrids und die Heptylester konnten mit Ausbeuten von 78% für das 5-Methoxy-Derivat **161** und 90% für das 4-Methoxy-Derivat **162** erhalten werden.

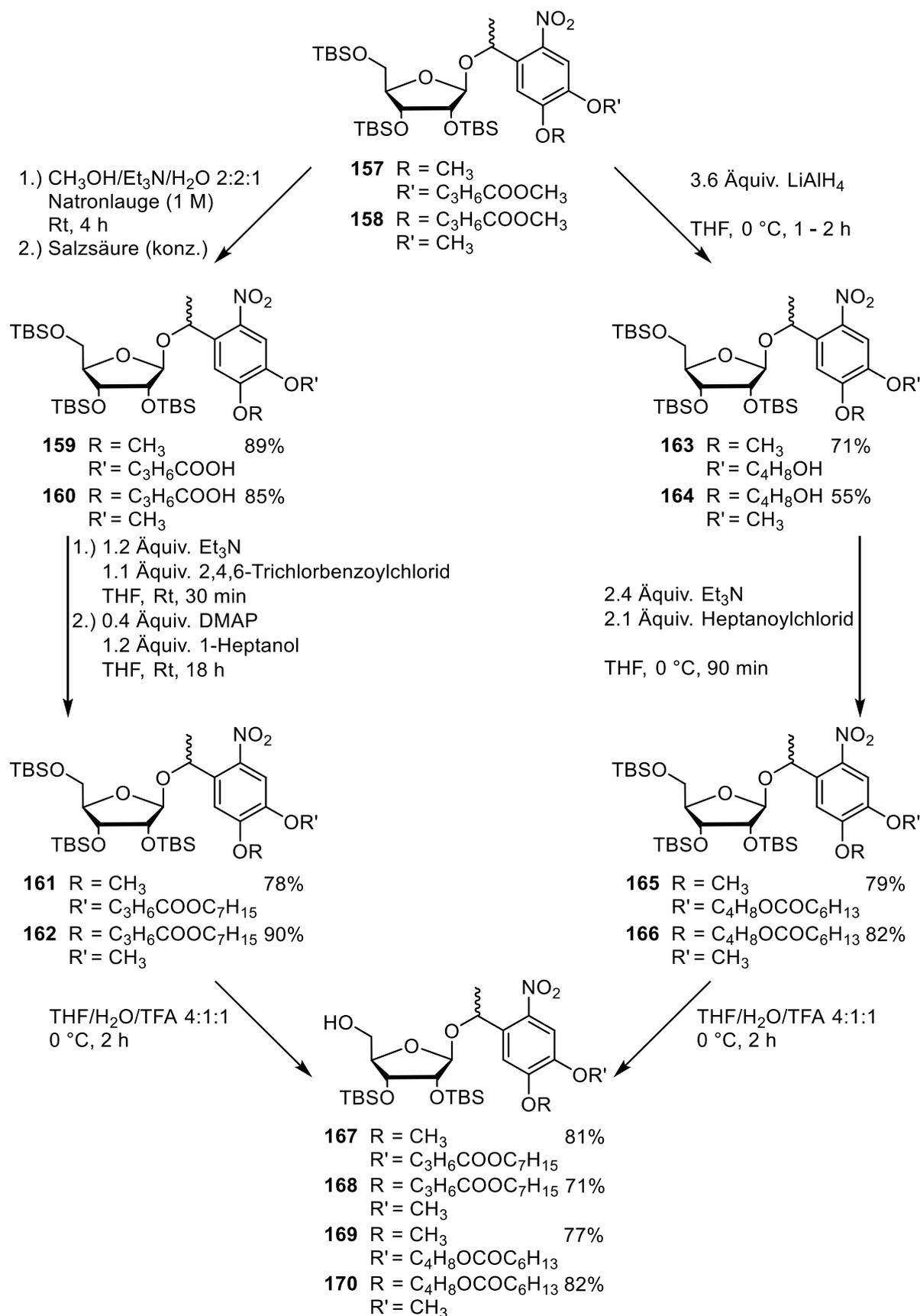


Abb. 6.69: Herstellung der Heptylester **167** und **168** sowie der Heptanylester **169** und **170** ausgehend von den regioisomeren Methylestern **157** und **158**.

Parallel zur Heptylestersynthese wurden die Methylester **157** und **158** durch Verwendung von Lithiumaluminiumhydrid zu den entsprechenden Butylalkoholen **163** und **164** reduziert (siehe **Abb. 6.69**). Dabei wurde zuerst die Reduktion des 4-Methoxy-Derivats **158** durchgeführt, welches vermeintlich einen vollständigen Umsatz während der dünnschichtchromatographischen Reaktionsverfolgung zeigte, jedoch konnte bei der säulenchromatographischen Reinigung neben dem Produkt zusätzlich nicht umgesetztes Edukt beobachtet werden. Für das 4-Methoxy-Derivat **164** konnte eine Ausbeute von 55% erzielt werden, die vermutlich auf den unvollständigen Umsatz zurückzuführen ist. Außerdem konnten bei der Reinigung zudem eine oder mehrere weitere Verbindungen bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung beobachtet werden, welche aufgrund der höheren Polarität auf der Basislinie nachgewiesen werden konnten. Dies ist in der Regel zu beobachten, wenn bei der Aufarbeitung durch Tageslicht eine Photolyse eines photolabil-geschützten Derivats induziert wird, was ebenfalls die Ausbeute des Produkts vermindert. Aus diesen Erkenntnissen wurde die Reduktion des 5-Methoxy-Methylester **157** für die doppelte Reaktionszeit gerührt und anschließend säulenchromatographisch gereinigt. Dabei konnte für den Butylalkohol **163** eine höhere Ausbeute von 71% erzielt werden. Ebenso konnte bei dieser Reinigung wieder eine Verbindung auf der Basislinie erkannt werden, welche auf eine Photolyse an Tageslicht hindeutet, obwohl darauf geachtet wurde, bei der Reaktion und Aufarbeitung die Exposition des Produkts mit Tageslicht zu minimieren. Die Photolyse kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, aber es wird vermutet, dass die reduktiven Bedingungen eine andere Nebenreaktion hervorrufen kann, wodurch die Ausbeute minimiert wird. Eine Aufklärung dessen wurde jedoch nicht weiter durchgeführt und die Butylalkohole **163** und **164** wurden in der nächsten Stufe umgesetzt.

Die Synthese der Heptanoyl ester **165** und **166** erfolgte analog zur Synthese der OB-Maske (siehe Kapitel 6.1.1) durch die Reaktion der Butylalkohole **163** und **164** mit einem Überschuss an Heptanoylchlorid unter Zusatz von Triethylamin zum Abfangen der entstehenden Säure (siehe **Abb. 6.69**). Unter diesen Bedingungen konnten für das 5-Methoxy-Derivat **165** eine Ausbeute von 79% und für das 4-Methoxy-Derivat **166** eine Ausbeute von 82% erzielt werden.

Anschließend wurden sowohl die Heptyl ester **161** und **162** als auch die Heptanoyl ester **165** und **166** in Anlehnung an die Vorschrift von DEKIERT jeweils an der 5-Position desilyliert,^[100] indem diese in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran, Wasser und Trifluoressigsäure (4:1:1 v/v/v) für zwei Stunden gerührt wurden. Unter diesen aciden Bedingungen erfolgt eine selektive Abspaltung der Schutzgruppe zu den desilylierten Produkten **167** - **170**. Bei den Heptyl estern **167** und **168** konnten für das 5-Methoxy-Derivat **167** eine Ausbeute von 81% und für das 4-Methoxy-Derivat **168** eine Ausbeute von 71% erzielt werden. Bei den Heptanoyl estern **169** und **170** konnten vergleichbare Ausbeuten für die beiden Regiosiomere mit 77% für das 5-Methoxy-Derivat **169** und 82% für das 4-Methoxy-Derivat **170** erhalten werden.

Im Folgenden sollten die desilylierten Ribose-Derivate **167** – **170** für die Kupplung zu ADPR-Derivaten vorbereitet werden, indem diese in die entsprechenden Monophosphate überführt werden. Dies erfolgte analog zu der in Kapitel 6.2.3 vorgestellten Phosphorylierung unter Verwendung vom Fm-Amidit **91** mit anschließender Abspaltung der verwendeten Fm- und Silylschutzgruppen (siehe **Abb. 6.70**).

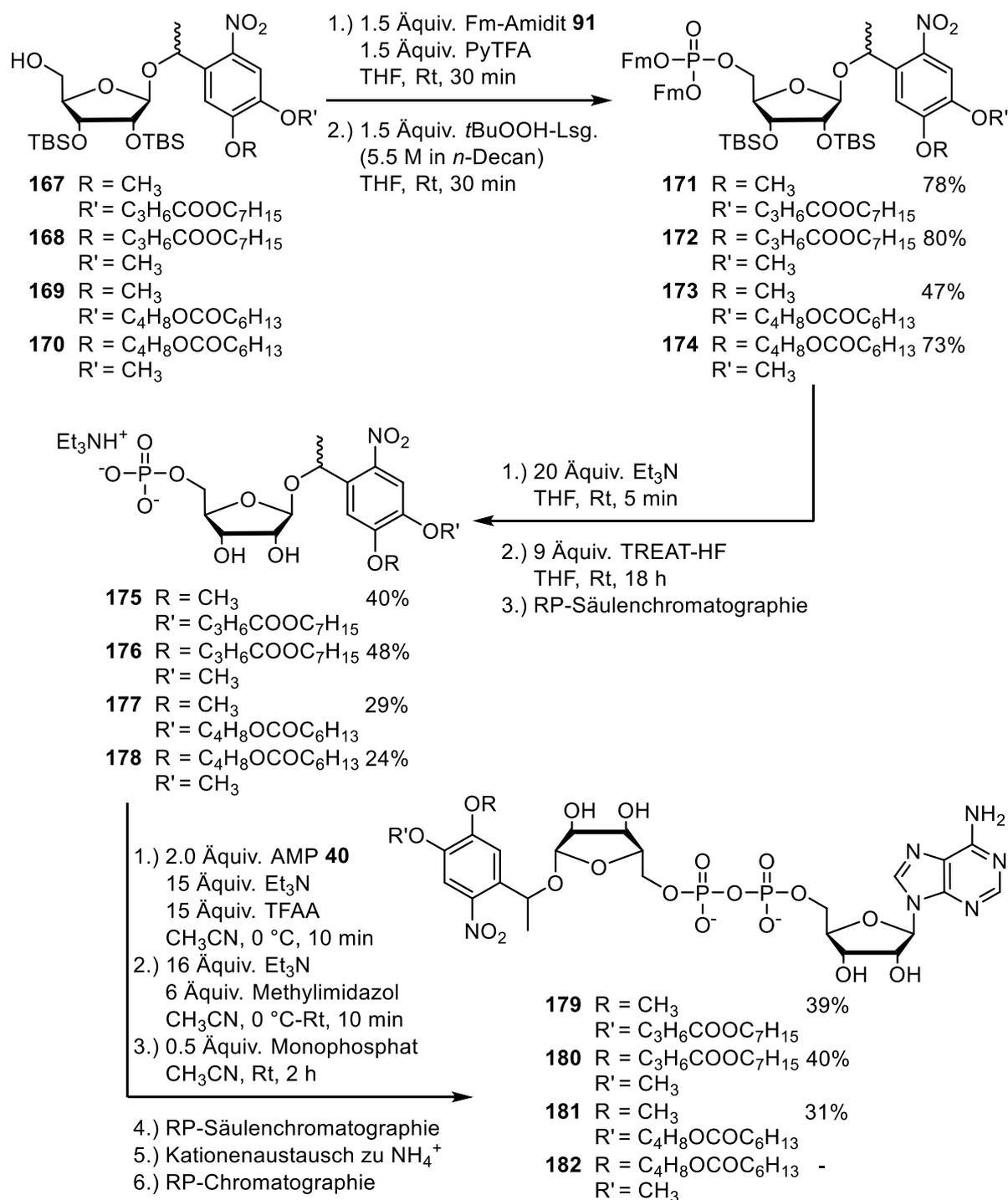


Abb. 6.70: Reaktionsschritte zur Synthese der *caged* ADPR-Verbindungen **179**, **180** und **181**. Das ADPR-Derivat **182** konnte nicht erhalten werden.

Hierfür wurden die desilylierten Derivate **167 - 170** zuerst in die Fm-geschützten Phosphatriester **171 - 174** überführt. Dies erfolgte unter Pyridiniumtrifluoracetat-vermittelter Reaktion der Edukte mit dem Fm-Amidit **91** und anschließender Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid. Die Reaktionsprodukte **171 - 174** konnten mit Ausbeuten von 47% - 80% isoliert werden. Die Ausbeute des 5-Methoxy-Heptanoylesters **173** wies mit 47% dabei eine Abweichung zu den restlichen Ausbeuten mit Werten über 70% auf.

Im nächsten Reaktionsschritt wurden die Fm-geschützten Monophosphate **171 - 174** in die vollständig entschützten *caged* Ribosemonophosphate **175 - 178** überführt (siehe **Abb. 6.70**). Hierfür wurde zuerst Triethylamin zur den Edukten **171 - 174** gegeben. Es wurde angenommen, dass die Abspaltung der ersten Fm-Gruppe bereits zu einem Großteil stattgefunden hat, woraufhin die Zugabe von TREAT-HF als Desilylierungsmittel erfolgte. Die Abspaltung der zweiten Fm-Gruppe sowie der Silylgruppen erfolgt somit gleichzeitig über einen Zeitraum von mehreren Stunden. Nach einer weiteren Reaktionsdauer von 18 Stunden wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie gereinigt. Durch die Zugabe von Triethylamin bzw. der Verwendung von TREAT-HF konnten die freien Monophosphate **175 - 178** als Salze mit 0.9 - 1.2 Äquiv. Triethylammonium-Ionen erhalten werden. Als Referenz dient hier die in Kapitel 6.2.3 durchgeführte basische Abspaltung von Fm-Gruppen zum MeNV-Ribosemonophosphat **80**, welche mit 61% durchgeführt werden konnte. Die hier erzielten Ausbeuten liegen mit Werten zwischen 24% und 48% deutlich unter dem Referenzwert. Auffällig dabei ist, dass die Ausbeuten der Heptanoylester **177** und **178** mit 29% bzw. 24% unter den Ausbeuten der Heptylester **175** und **176** liegen, welche mit 40% und 48% isoliert werden konnten. Es wird vermutet, dass die Ester unterschiedliche Stabilitäten gegenüber der verwendeten Reaktionsbedingung aufweisen und die Heptylester **175** und **176** anfälliger gegenüber einer Nebenreaktion sind. Da bereits im Kapitel 6.3 vermutet wurde, dass Desilylierungsreagenzien zur Spaltung der Esterbindung der verwendeten bioreversiblen Masken führen können, kann angenommen werden, dass dies in dieser Reaktion ebenfalls der Fall ist. Eine Aufteilung der Abspaltung der Fm-Gruppen und der Silylgruppen in zwei Reaktionsschritte könnte aufschlussreicher sein. Ebenso wird vermutet, dass die Verwendung des in Kapitel 6.3 angewandten Desilylierungsmittels aus TBAF und Essigsäure die Spaltung der Ester vermindert und damit die Ausbeute über die zwei Stufen auf einen Wert über den hier erreichten Ausbeuten der Verbindungen **175 - 178** erhöht werden könnte.

Abschließend erfolgte die Kupplung der Monophosphate **175 - 178** mit AMP **40** nach der in Kapitel 6.2.3 beschriebenen Methode von MOHAMADY *et al.*,^[133] bei der das AMP **40** durch Zugabe von TFAA und Methylimidazol aktiviert wird. Nach der Herstellung des Methylimidazolidats wurde ein entsprechendes Monophosphat **175 - 178** zugegeben. Nach der Kupplungsreaktion wurde das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie

gereinigt, anschließend die Kationen zu Ammoniumionen getauscht und abschließend das Produkt erneut RP-säulenchromatographisch gereinigt. Die Heptylester-Derivate **179** und **180** konnten mit einer Ausbeute von 39% für das 5-Methoxy-Regioisomer **179** und 40% für das 4-Methoxy-Regioisomer **180** erhalten werden. Dies entspricht den Erwartungen für die Ausbeute der Kupplungsreaktion, wenn man die Ausbeuten mit der Ausbeute von 44% für die Kupplung zum MeNV-ADPR **69** vergleicht (siehe Kapitel 6.2.3). Für die Heptanoylester-Derivate **181** und **182** traf dies nicht zu. Während das 5-Methoxy-Derivat mit einer leicht geringeren Ausbeute von 31% isoliert werden konnte, war die Isolierung des 4-Methoxy-Derivats nicht möglich. Es konnte zwar im Chromatogramm der RP-säulenchromatographischen Reinigung ein Signal beobachtet werden, welches durch den Vergleich der Retentionszeiten mit dem Regioisomer **181** dem Produkt zugeordnet werden könnte, doch da nach der Anzahl der Reaktionsschritte nur eine geringe Menge des Edukts *caged* Ribosemonophosphat **178** vorlag, konnte keine ausreichende Menge des Produkts **182** aus der Kupplungsreaktion erhalten werden. Da aber zumindest jeweils ein Heptylester bzw. Heptanoylester sowie jeweils ein 4-Methoxy- und ein 5-Methoxy-Regioisomer erhalten werden konnte, sollten die drei Verbindungen für folgende Vergleiche in Photolyse- und Hydrolysegeschwindigkeiten vorerst ausreichen. Zur vereinfachten Übersicht sind die vollständigen Strukturformeln der erfolgreich synthetisierten *caged* ADPR-Derivate in **Abb. 6.71** dargestellt.

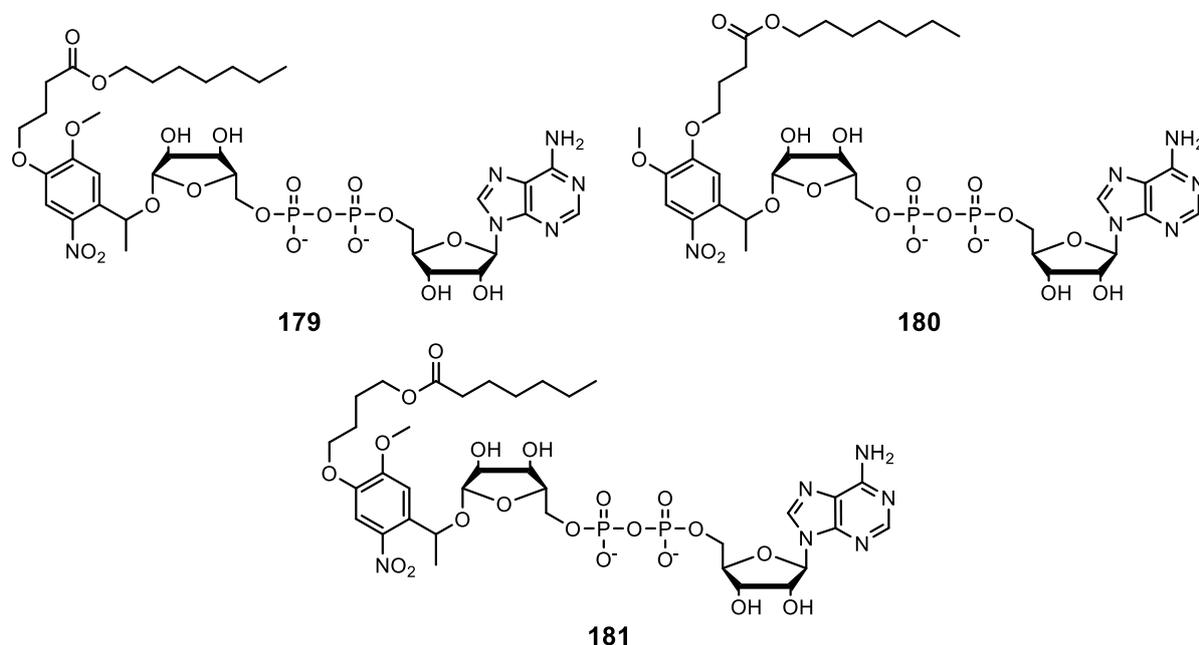


Abb. 6.71: Strukturformeln aller synthetisierter *caged* ADPR **179** - **181** mit Kombination aus bioreversibler und photolabiler Gruppe.

6.4.3 Photolyseexperimente an *caged* ADPR-Derivaten

Abschließend wurden Photolysen der *caged* ADPR-Verbindungen **179** - **181** durchgeführt, um eine direkte Freisetzung von ADPR **1** ohne vorige Spaltung des Esters zu verifizieren. Die Photolysen wurden bei 365 nm und 405 nm nach der in Kapitel 7.1.6 beschriebenen Vorschrift durchgeführt und die Halbwertszeiten der Spaltungsreaktion ermittelt.

Die Ergebnisse der Photolysen des Heptylesters **179** sind in **Abb. 6.72** dargestellt. Zum Start der 365 nm Photolyse eluiert das Edukt **179** mit einer Retentionszeit von 14.2 min mit zwei Maxima aufgrund der zwei Diastereomere. Auffällig ist, dass mit einer Retentionszeit von 14.4 min eine Verbindung mit zwei Maxima eluiert, was auf eine *caged* Verbindung schließen lässt. Die UV-Absorptionsspektren der Peaks bei 14.2 min und 14.4 min sind identisch, weshalb vermutet wird, dass es sich bei beiden Verbindungen um *caged* ADPR-Verbindungen handelt. Da die Vermutung nicht weiter bestätigt werden konnte, wurde zur Ermittlung der Halbwertszeit nur der dominante Peak verwendet, sodass sich das Verhältnis der Integrale in **Abb. 6.72 B** von dem Verhältnis in **Abb. 6.72 D** unterscheidet.

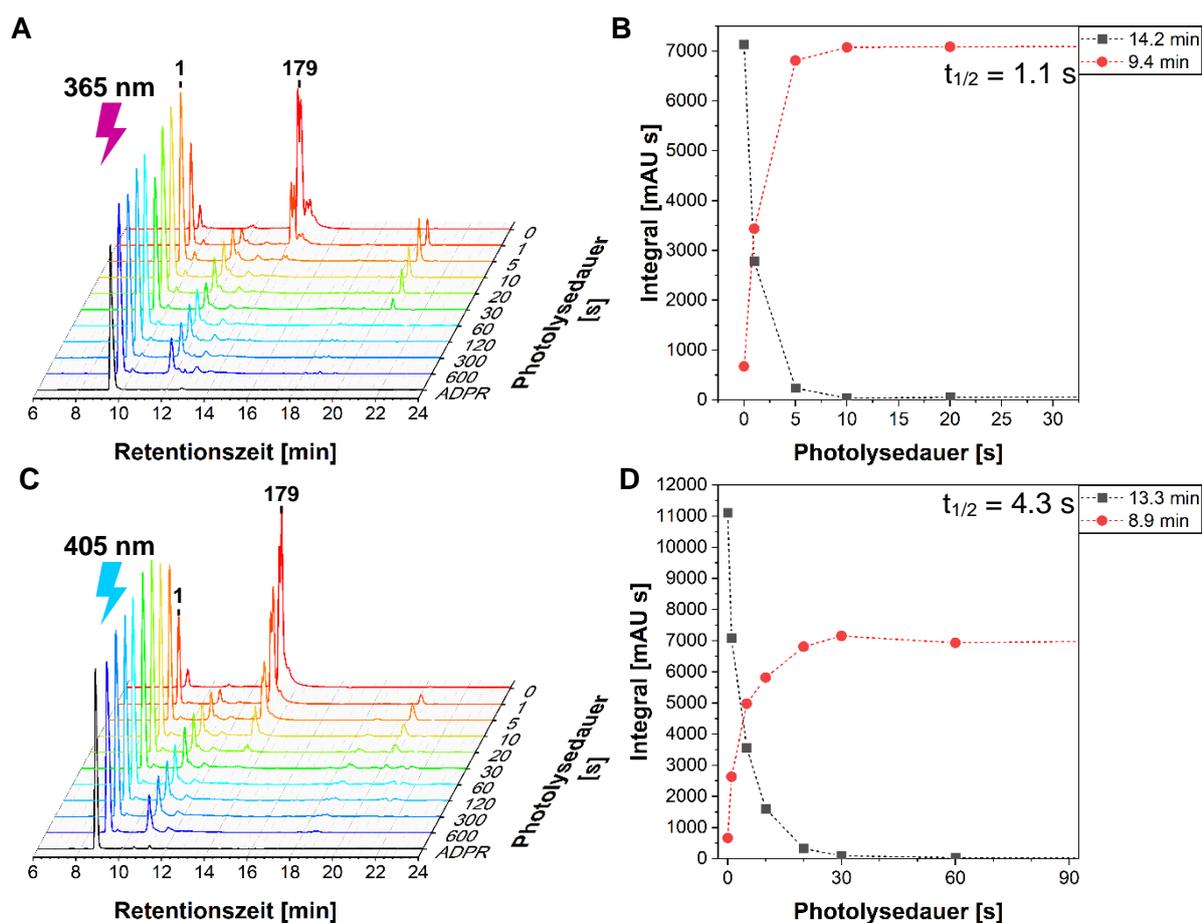


Abb. 6.72: Ergebnisse der Photolysen des 5-Methoxy-Heptylesters **179**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 365 nm. **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 405 nm. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 9**). **D** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale.

Eine Spaltung des Esters zum Carboxylat, welches aufgrund des Tetrabutylammonium-Puffers später als das Edukt eluieren könnte, wäre denkbar, doch aus einer Untersuchung der Substanz **179** via LC-MS (siehe folgendes Kapitel 6.5) wird deutlich, dass kein gespaltener Ester in der Stammlösung der Verbindung **179** vorlag bzw. keine Spaltung im Lösungsmittel vor dem Start der Photolyse stattfindet. Es wird vermutet, dass es durch die amphiphilen Eigenschaften der Verbindung **179** zum Teil zur Mizellenbildung im wässrigen Lösungsmittel kommen kann, die abhängig von der Pufferzusammensetzung leicht unterschiedlich zum freien Edukt **179** eluieren. Da zusätzlich im Laufe der Photolyse beide Peaks mit gleicher Rate abnehmen, wurde angenommen, dass es sich um die gleiche Verbindung **179** handelt. Die Photolyse erfolgt mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 1.1$ s. Bei der Photolyse wird hauptsächlich ADPR **1** gebildet, welches mit einer Retentionszeit von 9.4 min eluiert. Zusätzlich eluieren auch Verbindungen bei 11.8 min und 20.6 min, welche durch Betrachtung der UV-Absorptionsspektren auf Spaltprodukte der Photogruppe schließen lassen. Bei der Photolyse der Verbindung **179** bei 405 nm ist Ähnliches zu beobachten, einzig das Produkt eluiert nun vollständig zum gleichen Zeitpunkt bei einer Retentionszeit von 13.3 min und die Halbwertszeit der Photolyse beträgt mit $t_{1/2} = 4.3$ s ein vierfaches des Wertes bei 365 nm.

Bei der Photolyse der Verbindung **180** wurden ähnliche Ergebnisse wie für die Photolyse des Regioisomers **179** erhalten, welche in **Abb. 6.73** dargestellt sind. Die Elution des Edukts **180** erfolgte bei der HPLC-Verfolgung der 365 nm-Photolyse bei 13.3 min und bei der 405 nm-Photolyse bei 13.0 min. Abweichungen in den Retentionszeiten können durch Unterschiede des Puffers in Bezug auf Temperatur beim Ansetzen oder bei Verwendung, leichten Abweichungen im pH-Wert oder der Molarität an Tetrabutylammonium-Ionen hervorgerufen werden. Während die Photolyse bei 365 nm mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 1.2$ s abläuft, findet die Photolyse bei 405 nm mit dem dreifachen Wert von $t_{1/2} = 3.8$ s statt. Während die Photolyse beider Regioisomere **179** und **180** bei 365 nm mit gleicher Halbwertszeit abläuft, läuft die Photolyse bei 405 nm des Regioisomers **180** im Vergleich zur Photolyse des Regioisomers **179** mit einer geringfügig kürzeren Halbwertszeit ab. Zusammenfassend kann jedoch geschlossen werden, dass beide Regioisomere bei beiden Bestrahlungswellenlängen ungefähr gleich schnell ablaufen. Eine Unterscheidung zur Bestimmung eines optimalen Regioisomers ist zumindest anhand der Photolyseergebnisse nicht möglich.

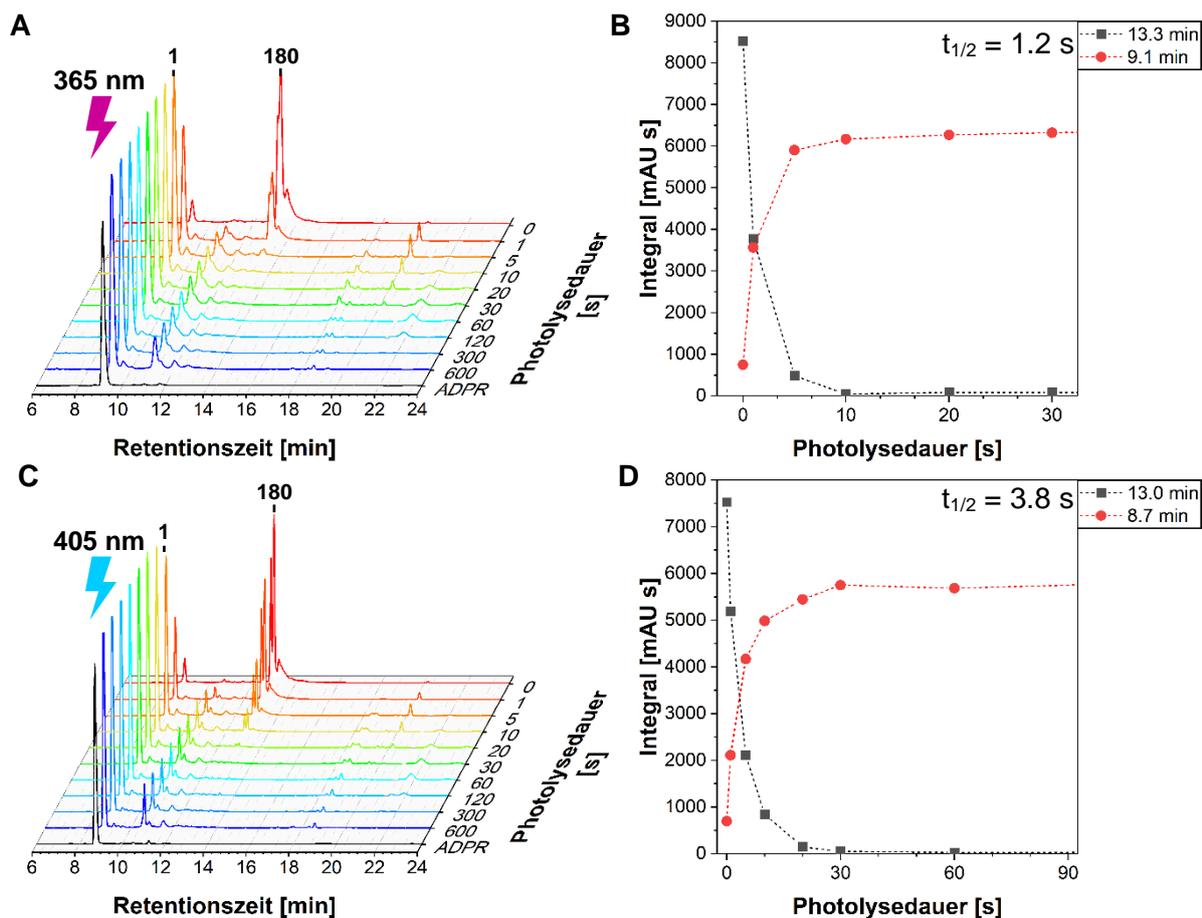


Abb. 6.73: Photolysen des 4-Methoxy-Heptylesters **180**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 365 nm. **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 405 nm. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 10**). **D** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale.

Abschließend wurde das Heptanoyl-Isomer **181** in Bezug auf die Photolyseeigenschaften untersucht. Auch hier wurden für die beiden Photolysen bei den Wellenlängen 365 nm und 405 nm ähnliche Ergebnisse wie bei den zuvor vorgestellten Photolysen der Verbindungen **179** und **180** erhalten. Das Edukt eluiert mit einer Retentionszeit von 13.3 min bei der 365 nm-Photolyse und mit 13.1 min bei der 405 nm-Photolyse. Mit zunehmender Photolysedauer nimmt das Integral des Eduktspeaks mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 1.2 \text{ s}$ ab, was vergleichbar mit den zuvor bestimmten Photolyse-Halbwertszeiten bei 365 nm der Verbindungen **179** und **180** ist. Auch hier kann bei beiden Bestrahlungswellenlängen die Entstehung zwei neuer Nebenprodukte mit Retentionszeiten von 10.7 min und 19.7 min sowie eines dritten Nebenprodukts mit einer Retentionszeit von 23.2 min beobachtet werden. Die UV-Absorptionsspektren dieser Verbindungen lassen wie zuvor erwähnt auf Nebenprodukte des Spaltprodukts der Photogruppe schließen (siehe Kapitel 6.2.5). Für die Photolyse bei 405 nm konnte für die Abnahme des Edukt-Integrals eine Halbwertszeit $t_{1/2} = 6.0 \text{ s}$ bestimmt werden, was einer Reduktion um 50% zu den Halbwertszeiten der Derivate **179** und **180** entspricht.

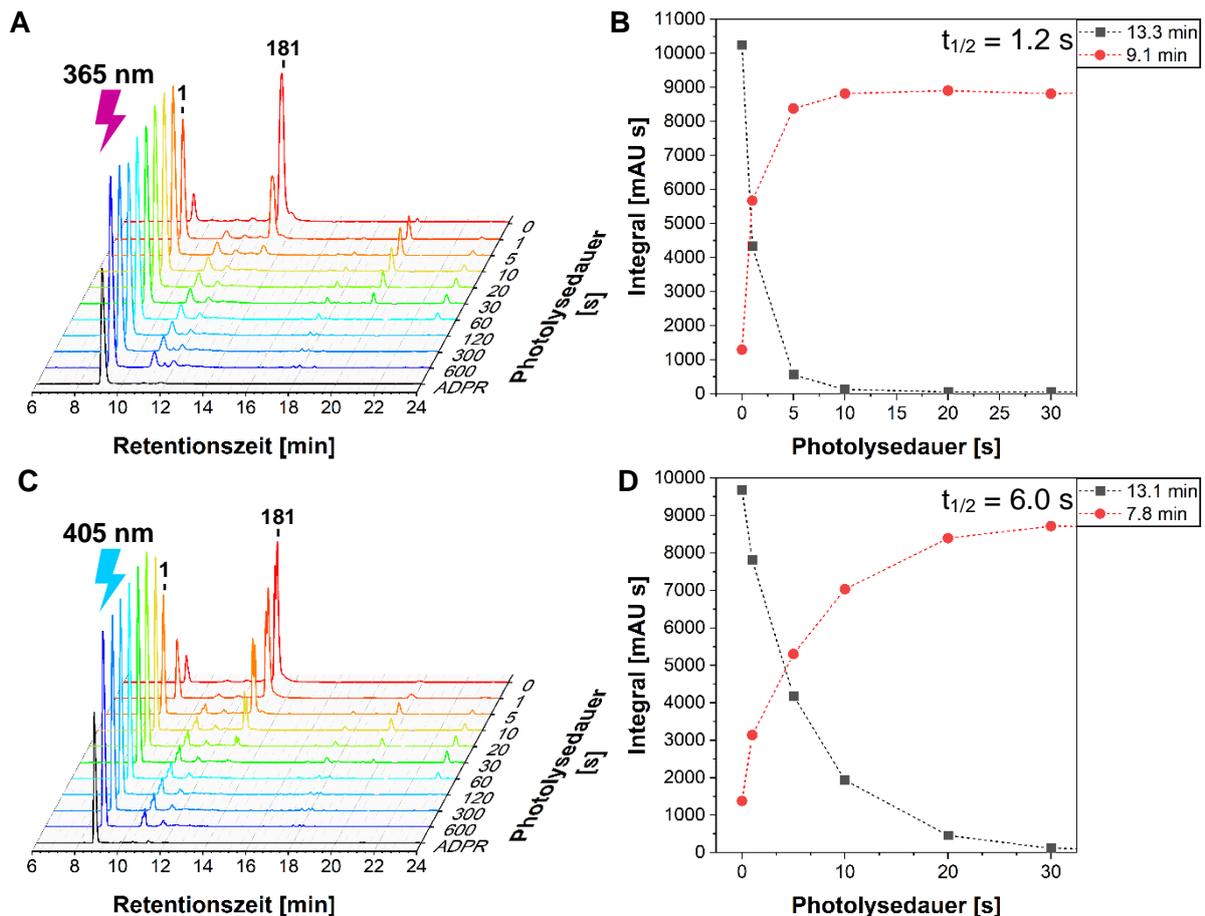


Abb. 6.74: Photolysen des 5-Methoxy-Heptanoylesters **181**. **A:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 365 nm. **B:** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale. **C:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Chromatogramme der einzelnen Photolysezeitpunkte von der Photolyse bei 405 nm. (Vollständige Diagramme siehe **Anhang 11**). **D** Zeitlicher Verlauf der Integrale der jeweiligen Signale.

Zusammenfassend konnte für alle drei bioreversiblen *caged* ADPR-Derivate **179** - **181** eine erfolgreiche Photolyse sowohl bei 365 nm und 405 nm zum freien ADPR **1** beobachtet werden. Dies bietet im Gegensatz zu den *caged* ADPR-Derivaten früherer Generationen (siehe Kapitel 6.1 und 6.3) den Vorteil, dass selbst bei nicht erfolgter Spaltung der Estergruppe eine Photolyse stets zur Freisetzung des aktiven Substrats führt. Bei einer Bestrahlungswellenlänge von 365 nm zeigen die drei Verbindungen **179** - **181** keine signifikanten Unterschiede. Wenn eine möglichst schnelle Photolyse bei einer Wellenlänge von 405 nm erfolgen soll, dann sollten aufgrund der kürzeren Halbwertszeiten die Heptylester **179** und **180** verwendet werden. Nichtsdestotrotz erfolgt die Freisetzung bei 405 nm beim Heptanoyl-Derivat **181** deutlich schneller als beim P_{β} -NPE-ADPR **122** bzw. gleich schnell beim Vergleich zum P_{β} -MeNV-ADPR **123** (siehe Kapitel 6.3.3).

6.5 Hydrolyse- und Photolyseexperimente in HEK293-Zellextrakt

Abschließend sollten alle synthetisierten Zielverbindungen auf ihre Hydrolyse- und Photolyseeigenschaften in Zellextrakten untersucht werden. Im Gegensatz zur CEM/0-Zellextrakthydrolyse, die in Kapitel 6.1.5 am acetylierten bioreversibel-maskierten *caged* ADPR **37** durchgeführt wurde, sollten in diesem Fall Zellextrakte verwendet werden, welches auf einer Zelllinie basiert, die in Experimenten mit Bezug zu ADPR **1** und TRPM2 zum Einsatz kommt. Eine solche Zelllinie stellt die HEK293-Zelllinie dar.^[145–147] Für die folgenden Untersuchungen wurden HEK293-Zellextrakte verwendet, welche von FLIEGERT vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf hergestellt und zur Verfügung gestellt wurden. Die Herstellung der Zellextrakte erfolgte ohne Zusatz von Proteaseinhibitoren, um keinen Einfluss auf die Aktivität der Esterasen zu nehmen, weshalb aber mit kurzer Aktivitätsdauer des Extrakts gerechnet wurde. Als Referenz zur chemischen Hydrolyse wurden die Zielverbindungen mit PBS-Puffer hydrolysiert. Die Hydrolysen wurden nach den in Kapitel 7.1.6 aufgeführten Vorschriften durchgeführt und die Analyse aller Proben erfolgte diesmal ausschließlich via LC-MS. Eine HPLC-Verfolgung der Reaktionen müsste für genauere Aussagen durch Retentionszeitvergleiche mit Referenzsubstanzen der Reaktionsprodukte erfolgen, die bei der Vielzahl möglicher Hydrolyseprodukte mit einem synthetischen Aufwand einhergeht. Die Wahl von LC-MS als Analyseverfahren bietet den Vorteil, dass Hydrolyse- oder Photolyseprodukte qualitativ anhand ihres Molekulargewichts analysiert werden können. Eine genaue Aussage über den prozentualen Anteil der einzelnen Produkte kann jedoch nur eingeschränkt getroffen werden, da die Integrale beispielsweise von der Ionisierbarkeit der einzelnen Verbindungen oder potentiell auftretenden Matrixeffekten abhängen. So kann das Integral eines dominanten Hydrolyseprodukts durch vergleichsweise geringere Ionisierbarkeit kleiner als das eines geringer konzentrierten Hydrolyseprodukts ausfallen oder beispielsweise eine biologische Matrix suppressive oder verstärkende Effekte auf die Ionisierbarkeit ausüben.^[148] Für einen entsprechenden quantitativen Vergleich müssten externe oder interne Standards verwendet werden. Die Durchführung der Experimente erfolgte als Unikate, damit die Anwendbarkeit der Methode geprüft und die Stabilitäten der untersuchten Substanzen ermittelt werden konnten. Die durchgeführten LC-MS-Untersuchungen der Reaktionslösungen dienen somit ausschließlich der qualitativen Analyse und zur Bestätigung des Hydrolyse- und Photolysekonzepts zur Freisetzung von freiem ADPR **1** bzw. dADPR **2** aus den maskierten Derivaten. Die aus den Hydrolyse- und Photolysestudien gewonnenen Erkenntnisse sollen jedoch eine Basis für zukünftige Quantifizierungen von *caged* ADPR-Derivaten darstellen.

6.5.1 Acetylierte bioreversibel-maskierte *caged* ADPR-Derivate

Zuerst wurden die in Kapitel 6.1 hergestellten acetylierten und bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivate **36** - **39** untersucht (siehe **Abb. 6.75**). Die Ergebnisse sind in den **Abb. 6.76**, **Abb. 6.77**, **Abb. 6.78** und **Abb. 6.79** dargestellt.

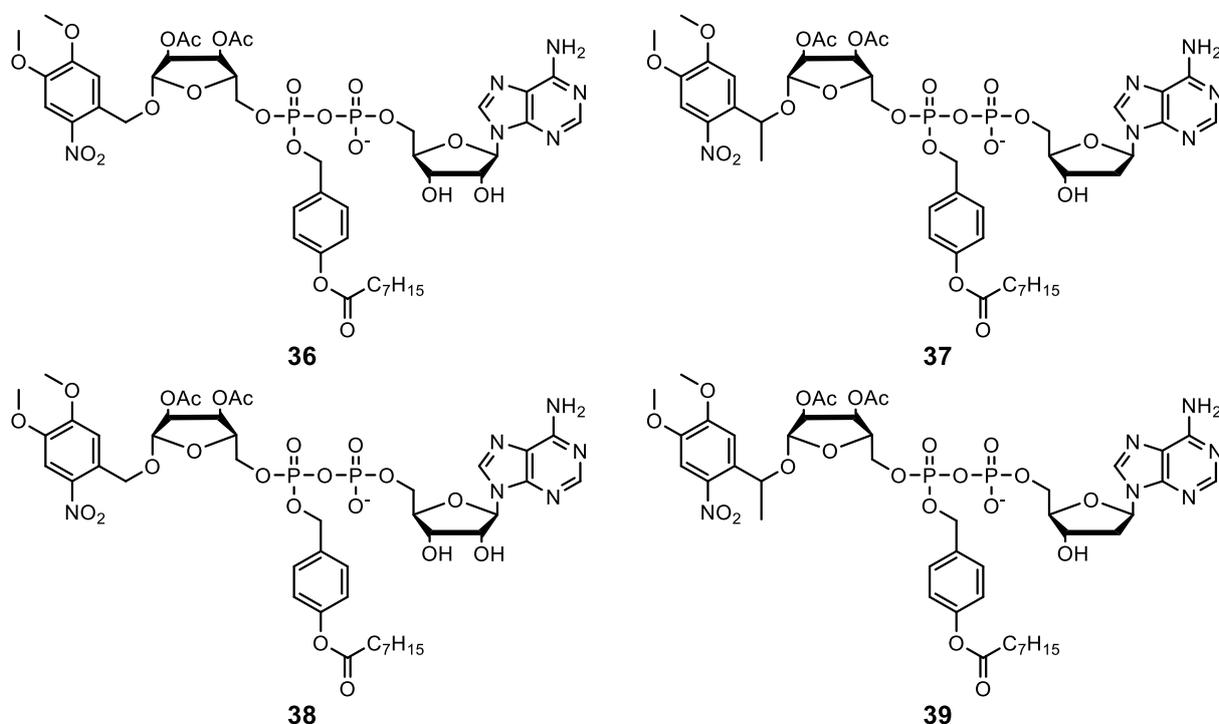


Abb. 6.75: Strukturformeln der acetylierten bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivate **36** - **39** (siehe Kapitel 6.1).

Die Durchführung der PBS-Hydrolyse sowie der HEK-Zellextrakthydrolyse erfolgte nach der in Kapitel 7.1.6 beschriebenen Vorschrift bei 37 °C. Bei der Zellextrakthydrolyse wurde die Hydrolyse nach einer Dauer von vier Stunden abgebrochen und die Hydrolyselösung bei 365 nm photolysiert. Es wurden zu gewählten Zeitpunkten bei der HEK-Hydrolyse bzw. der Photolyse Aliquote abgenommen, die Proteine durch Zugabe von Methanol bei 0 °C gefällt und die Probe zum Vermessen via LC-MS mit Wasser verdünnt. Die Zugabe von Methanol und Wasser wurde ebenfalls bei der PBS-Hydrolyse durchgeführt. Mögliche Hydrolyseprodukte sind durch die Abspaltung der OB-Maske und die Deacetylierungen zu erwarten. Zusätzlich soll die Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats beachtet werden, was die Bildung von AMP **40** bzw. dAMP **41** sowie der entsprechenden OB-maskierten *caged* Ribosemonophosphate (RibMP) zur Folge hätte. Als mögliche Reaktionen bei der Photolyse wird die Abspaltung der Photogruppe der entstandenen Hydrolyseprodukte erwartet. Es wurden die exakten Massen der möglichen Hydrolyseprodukte in ihrer einfach deprotonierten Form berechnet, welche in den Tabellen in **Abb. 6.76 A**, **Abb. 6.77 A**, **Abb. 6.78 A** und **Abb. 6.79 A** aufgelistet sind. Die berechneten exakten Massen wurden zur Auswertung der gemessenen ESI-Massenspektren herangeführt, indem damit zur Veranschaulichung des

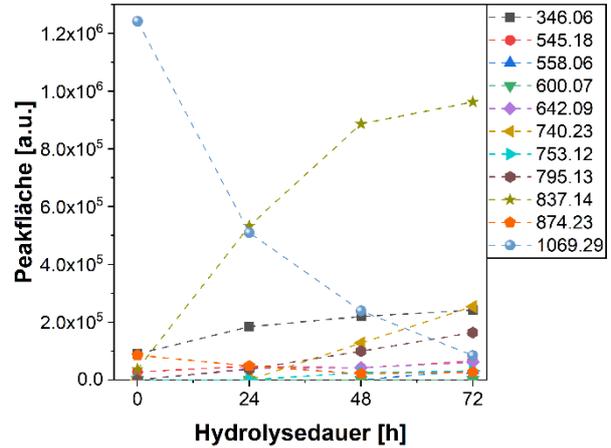
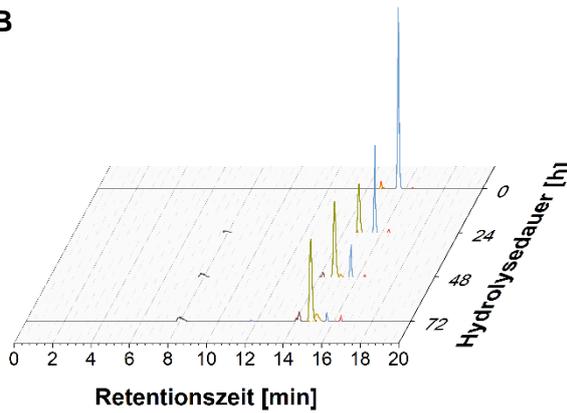
Verlaufs der Hydrolyse bzw. Photolyse extrahierte Ionenchromatogramme (EIC) generiert wurden. Die entsprechenden Chromatogramme der einzelnen EIC sind farblich markiert und zusätzlich die zeitlichen Verläufe der entsprechenden Integrale aufgetragen.

Zuerst wird die PBS-Hydrolyse betrachtet: Jede der Zielverbindungen **36 - 39** geht im Laufe der Inkubationszeit eine chemische Hydrolyse ein, bis diese nach einer Inkubationszeit von 72 Stunden fast vollständig hydrolysiert wurden. Auftretende Reaktionen sind dabei die Abspaltung der OB-Maske sowie die Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats. Diese Reaktionen haben den Anstieg der EIC-Integrale des acetylierten *caged* ADPR **65** bzw. dADPR **67** zur Folge, aber auch die Integrale von (d)AMP und des OB-maskierten *caged* RibMP steigen leicht an. Während in allen PBS-Hydrolysen das Integral der *caged* ADPR-Derivate **65** und **67** denen der Monophosphate deutlich übersteigt, kann aufgrund potentiell unterschiedlich starker Ionisierbarkeiten der Hydrolyseprodukte keine eindeutige Aussage über die bevorzugte Hydrolysereaktion getroffen werden. Ähnliche Ergebnisse konnten bei der HEK-Hydrolyse der Zielverbindungen **36 - 39** erhalten werden, wobei die Hydrolyse deutlich schneller erfolgte, da bereits nach vier Stunden Inkubationszeit fast kein Edukt mehr zu beobachten war. Dabei konnte stets das Integral des demaskierten *caged* ADPRs **65** bzw. dADPRs **71** als das dominante beobachtet werden. Trotzdem scheint die Abspaltung der OB-Maske in diesem Zellextrakt nicht schnell genug zu erfolgen, da weiterhin die Spaltung zu AMP **40** bzw. dAMP **41** und den maskierten *caged* Ribosemonophosphaten zu beobachten ist. Auffällig ist zudem, dass die OB-Maske deutlich langsamer hydrolysiert wird, als es bei der CEM/0-Zellextrakthydrolyse vom ADPR-Derivat **37** der Fall war (siehe Kapitel 6.1.5). Daraufhin wurde der Proteingehalt durch spektralphotometrische Bestimmung bei einer Wellenlänge von 280 nm bestimmt. Obwohl beide Zellextrakte mit einer Zellkonzentration von etwa 10 Millionen Zellen pro Milliliter hergestellt wurden, konnte für die CEM/0-Zellextrakte eine 7-fach höhere Proteinkonzentration bestimmt werden. Die Proteinbestimmung via UV-Absorption bei 280 nm ist jedoch eher ungenau, weshalb für einen genauen Vergleich eine Proteinbestimmung nach BRADFORD durchgeführt werden müsste. Jedoch reicht die Bestimmung via Spektralphotometer für diese Zwecke aus, um eine Erklärung der Unterschiede in den Hydrolysegeschwindigkeiten zu erhalten. Dies könnte auch eine Begründung dafür sein, dass die Deacetylierungsreaktion der *caged* Derivate **65** und **71** kaum beobachtet wird, da bereits bei der höher konzentrierten CEM/0-Zellextrakthydrolyse die Abspaltung der Acetylgruppen mehrere Stunden in Anspruch nahm. Dementsprechend konnte bei der anschließenden Photolyse hauptsächlich nur die Entstehung des zweifach acetylierten (d)ADPRs **72** und **73** beobachtet werden. Zusätzlich dazu wird das maskierte Ribosemonophosphat als Photolyseprodukt beobachtet.

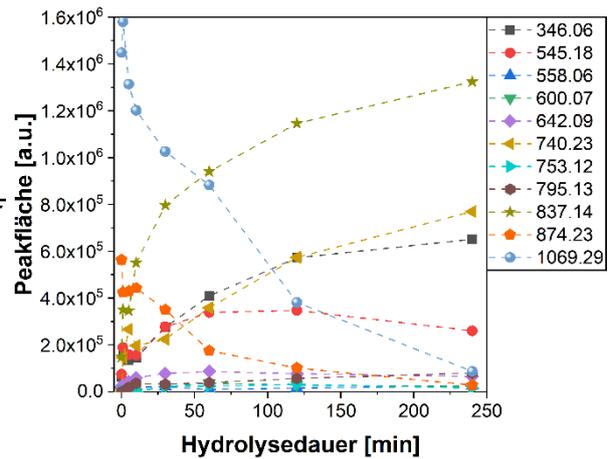
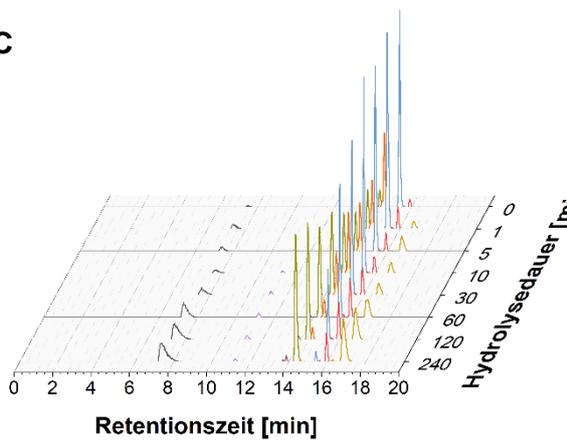
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
1069.29	●	OB-NV-DiAc-ADPR 36	642.09	●	DiAc-ADPR 72
874.23	●	OB-DiAc-ADPR 74	600.07	●	Ac-ADPR
837.14	●	NV-DiAc-ADPR 64	558.06	●	ADPR 1
795.13	●	NV-Ac-ADPR	545.18	●	OB-DiAc-RibMP
753.12	●	NV-ADPR 68	346.06	●	AMP 40
740.23	●	OB-NV-DiAc-RibMP			

B



C



D

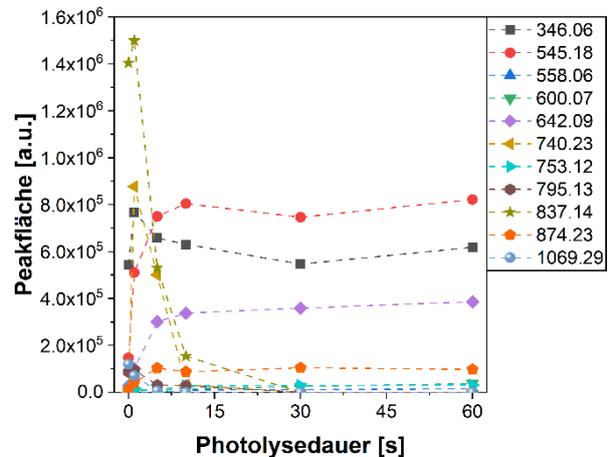
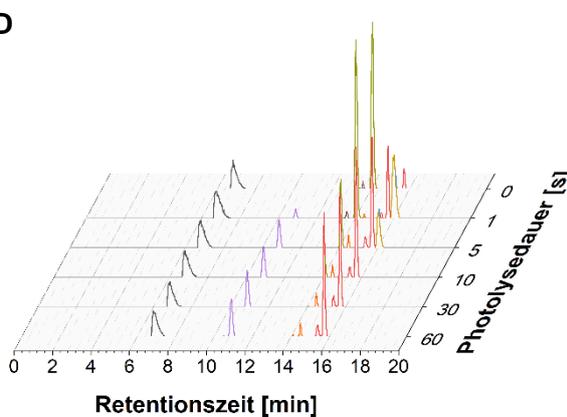
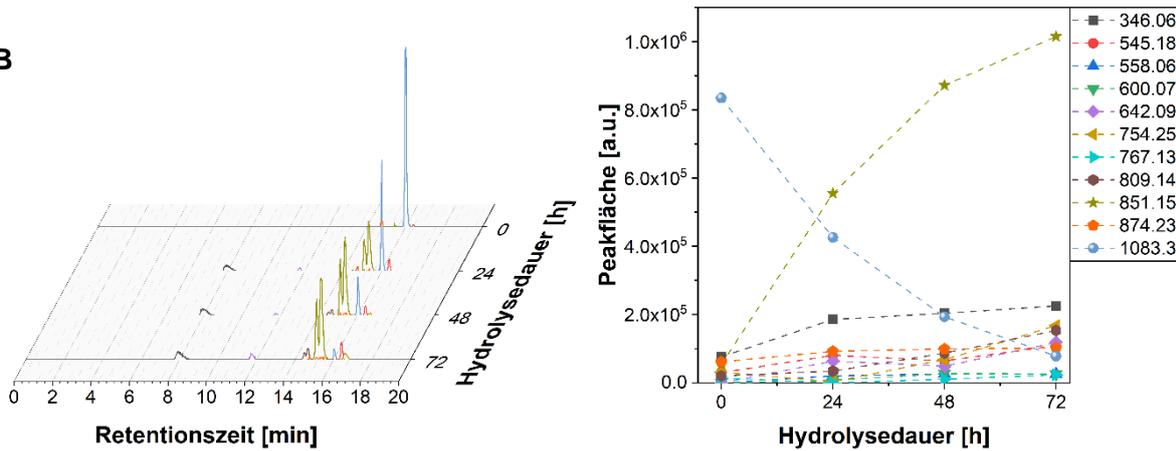


Abb. 6.76: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom acetylierten bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivat **36**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

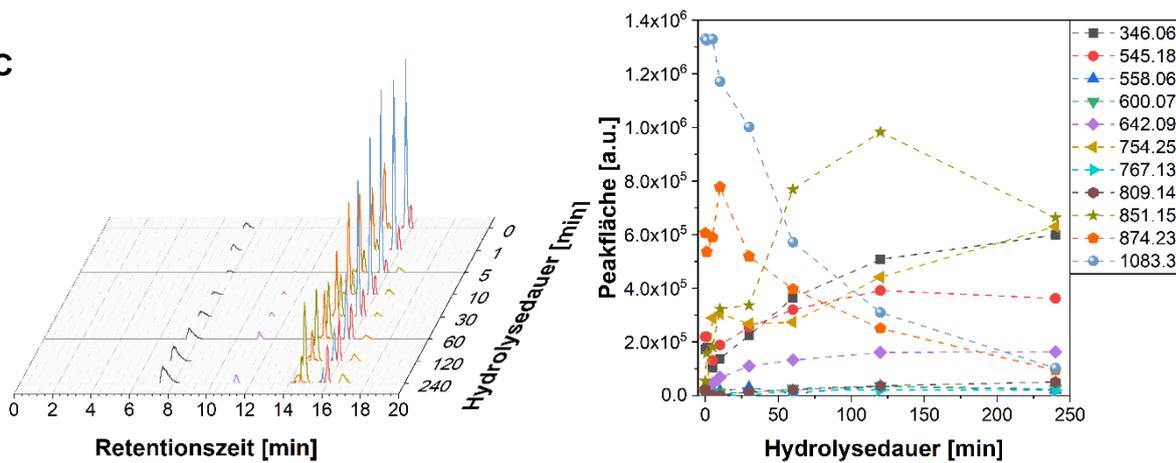
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
1083.30	●	OB-MeNV-DiAc-ADPR 37	642.09	●	DiAc-ADPR 72
874.23	●	OB-DiAc-ADPR 74	600.07	●	Ac-ADPR
851.15	●	MeNV-DiAc-ADPR 65	558.06	●	ADPR 1
809.14	●	MeNV-Ac-ADPR	545.18	●	OB-DiAc-RibMP
767.13	●	MeNV-ADPR 69	346.06	●	AMP 40
754.25	●	OB-MeNV-DiAc-RibMP			

B



C



D

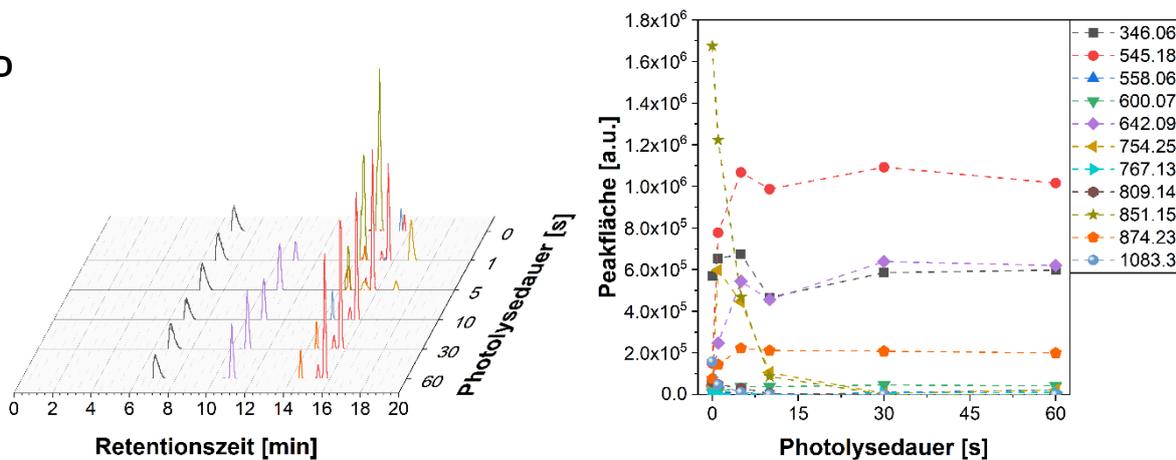
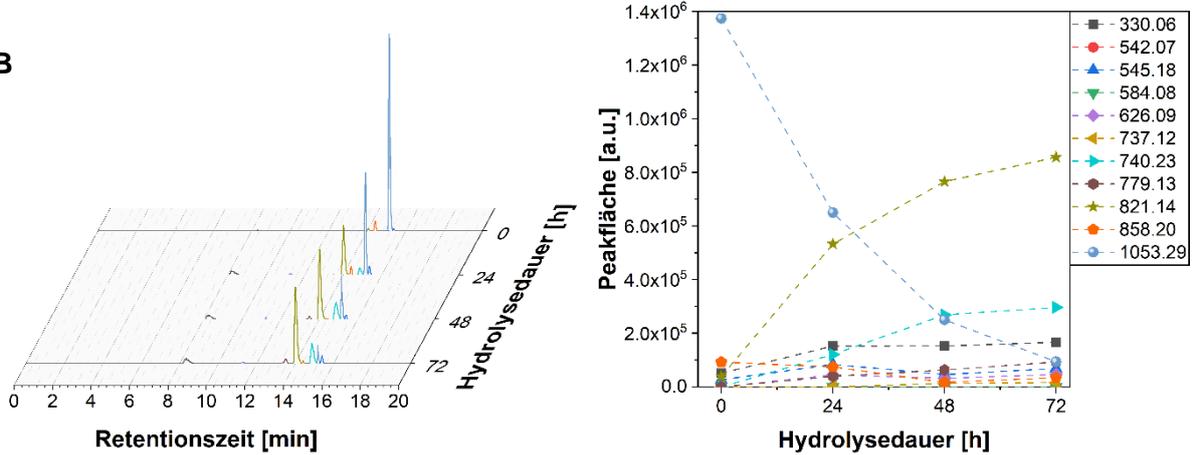


Abb. 6.77: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom acetylierten bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivat **37**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

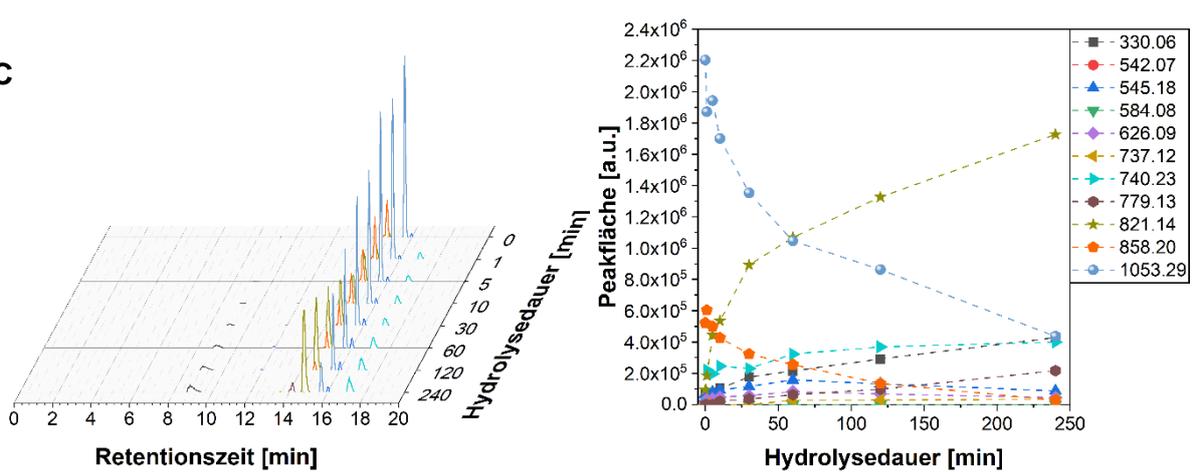
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
1053.29	●	OB-NV-DiAc-dADPR 38	626.09	●	DiAc-dADPR 73
858.20	●	OB-DiAc-dADPR 75	584.08	●	Ac-dADPR
821.14	●	NV-DiAc-dADPR 66	545.18	●	OB-DiAc-RibMP
779.13	●	NV-Ac-dADPR	542.07	●	dADPR 2
740.23	●	OB-NV-DiAc-RibMP	330.06	●	dAMP 41
737.12	●	NV-dADPR 70			

B



C



D

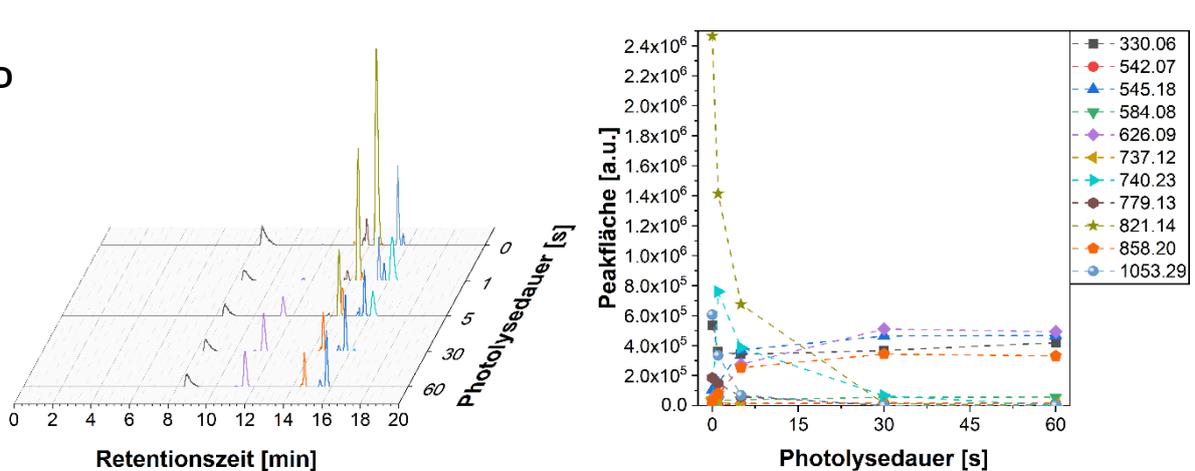
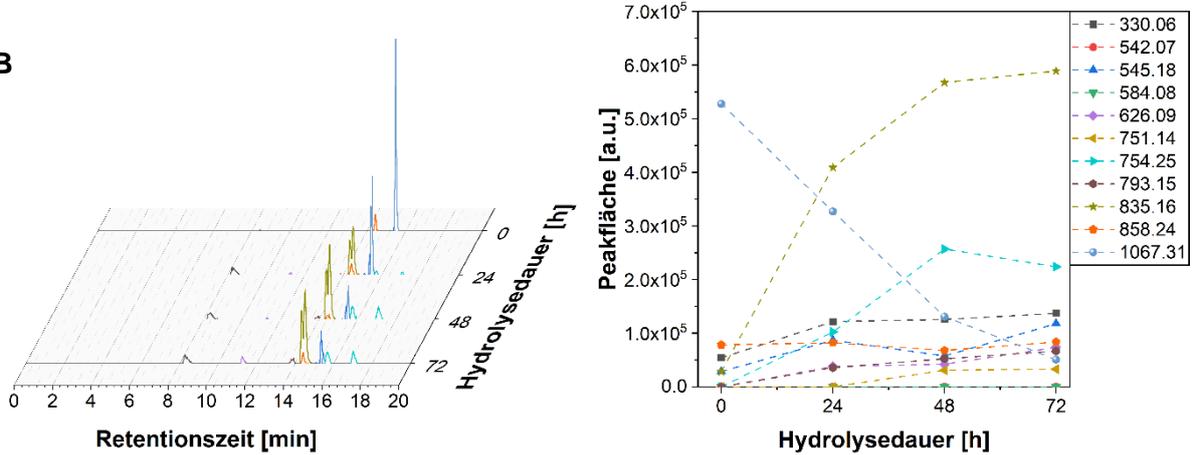


Abb. 6.78: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom acetylierten bioreversibel-maskierten *caged* dADPR-Derivat **38**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

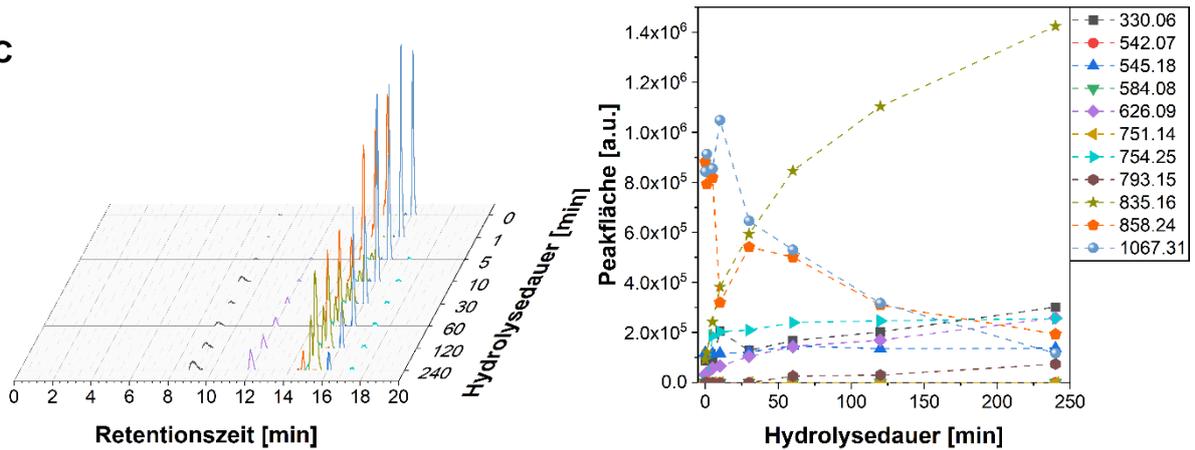
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
1067.31	●	OB-MeNV-DiAc-dADPR 39	626.09	●	DiAc-dADPR 73
858.24	●	OB-DiAc-dADPR 75	584.08	●	Ac-dADPR
835.16	●	MeNV-DiAc-dADPR 67	545.18	●	OB-DiAc-RibMP
793.15	●	MeNV-Ac-dADPR	542.07	●	dADPR 2
754.25	●	OB-MeNV-DiAc-RibMP	330.06	●	dAMP 41
751.14	●	MeNV-dADPR 71			

B



C



D

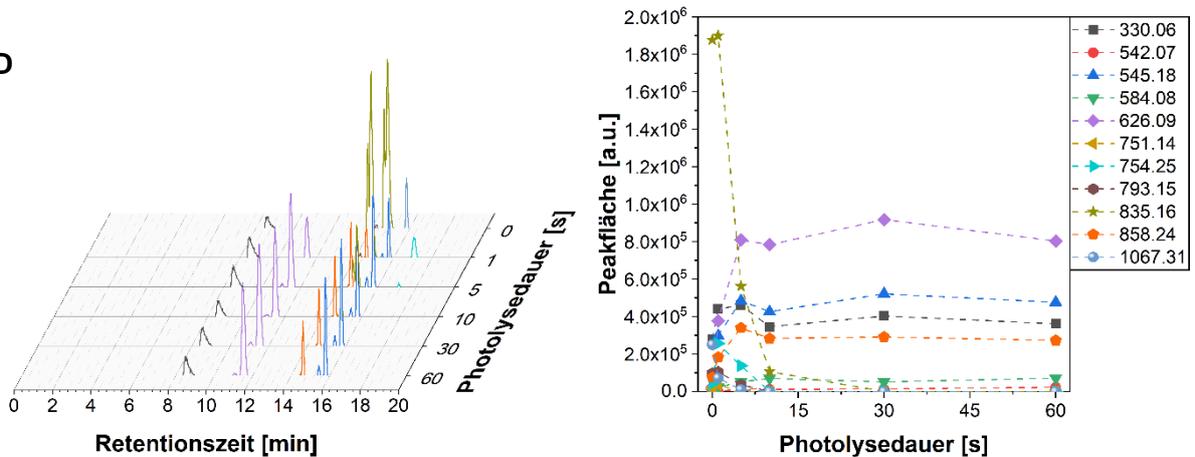


Abb. 6.79: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom acetylierten bioreversibel-maskierten *caged* dADPR-Derivat **39**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

Es lässt sich zusammenfassen, dass die acetylierten bioreversibel-maskierten ADPR-Derivate **36 - 39** über mehrere Stunden in PBS-Puffer stabil sind. Ebenso kann davon ausgegangen werden, dass die Demaskierung der OB-Gruppen im HEK-Zellmedium stattfindet, da die Abspaltung in den Zellextrakten beobachtet werden konnte. Jedoch ist die Deacetylierungsreaktion in den HEK-Zellextrakten kaum zu beobachten, weshalb bei der Photolyse nicht die Agonisten, sondern deren acetylierten Derivate freigesetzt wurden.

6.5.2 Nicht-acetyliertes bioreversibel-maskiertes *caged* ADPR

Es sollte das nicht-acetylierte ADPR-Derivat **121** (siehe **Abb. 6.80**) auf die Stabilität in PBS-Puffer und HEK-Zellextrakte mit anschließender Photolyse untersucht werden. Die Durchführung erfolgte analog zu den Experimenten der Zielverbindungen **36 - 39**. Die Ergebnisse sind in **Abb. 6.81** dargestellt.

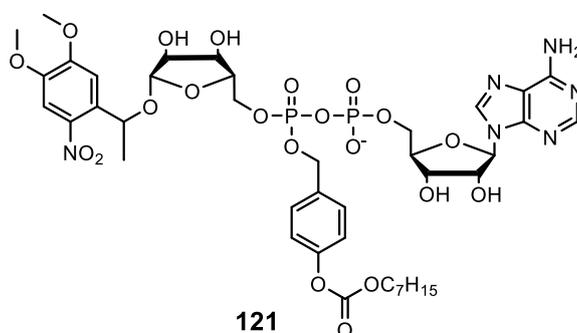


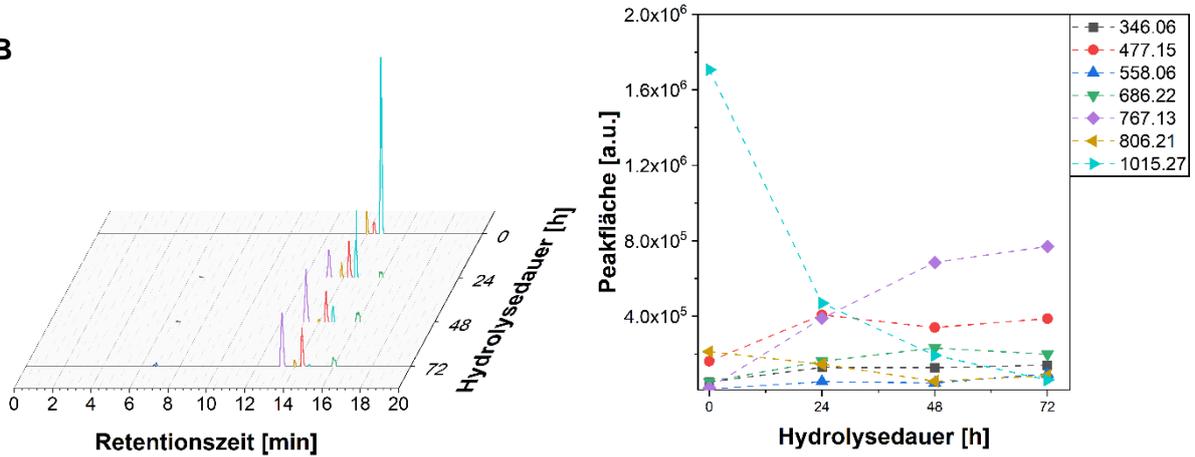
Abb. 6.80: Strukturformel des bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivats **121** (siehe Kapitel 6.3).

Es sind zu den zuvor beschriebenen Hydrolyseprodukten der Zielverbindung **37** analoge Hydrolyseprodukte der Zielverbindung **121** möglich (siehe **Abb. 6.81 A**), lediglich die OB-Maske ist durch eine Heptyl-ACB-Maske (C₇CB-Maske) ausgetauscht. Da das Edukt **121** keine Acetylgruppen enthält, entfallen ebenso die acetylierten Hydrolyseprodukte. Anhand der PBS-Hydrolyse (siehe **Abb. 6.81 B**) wird deutlich, dass das Edukt **121** chemisch hydrolysiert wird. Im Vergleich zur PBS-Hydrolyse des maskierten *caged* ADPRs **37** verläuft die chemische Hydrolyse der Verbindung **121** schneller, da das Integral des Edukts **121** bereits nach einer Hydrolysedauer von 24 Stunden einem Viertel des Integrals zu Anfang der Hydrolyse entspricht. Aus dem Edukt **121** wird bei der Hydrolysereaktion hauptsächlich das MeNV-ADPR **69** gebildet. Zeitgleich ist in den Chromatogrammen auch das Signal des ACB-maskierten Ribosemonophosphats ohne PPG dominant, welches durch Spaltung der maskierten Verbindung C₇CB-ADPR entsteht, das zuvor durch Photolyse an Tageslicht aus dem Edukt **121** erhalten wurde. Diese Ergebnisse decken sich mit der in Kapitel 6.3.1 aufgestellten Hypothese, dass die Zielverbindung durch die fehlenden Acetylgruppen eine höhere Labilität gegenüber einer chemischen Hydrolyse besitzt, was mit einer erschwerten Synthese einhergeht.

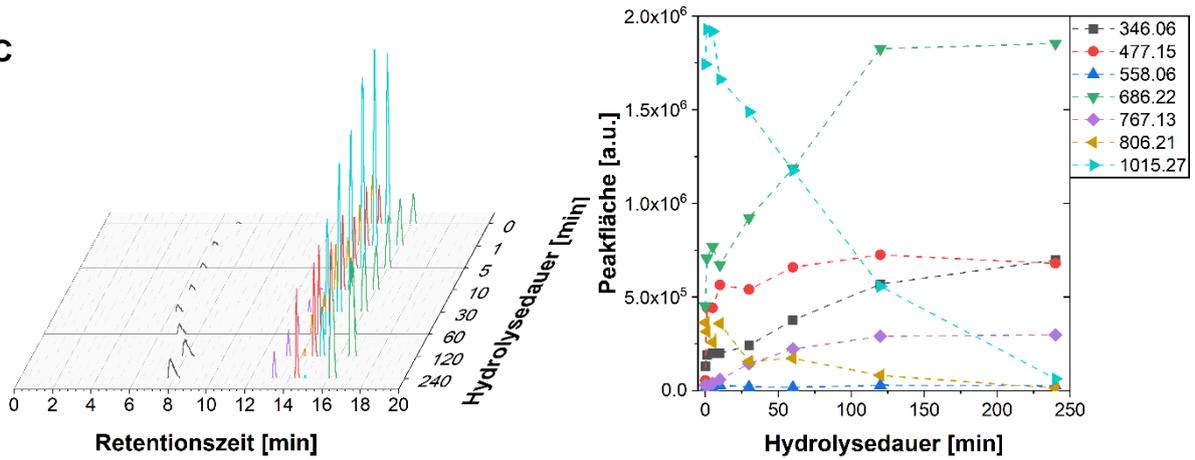
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
1015.27	●	C ₇ CB-MeNV-ADPR 121	558.06	●	ADPR 1
806.21	●	C ₇ CB-ADPR	477.15	●	C ₇ CB-RibMP
767.13	●	MeNV-ADPR 69	346.06	●	AMP 40
686.22	●	C ₇ CB-MeNV-RibMP			

B



C



D

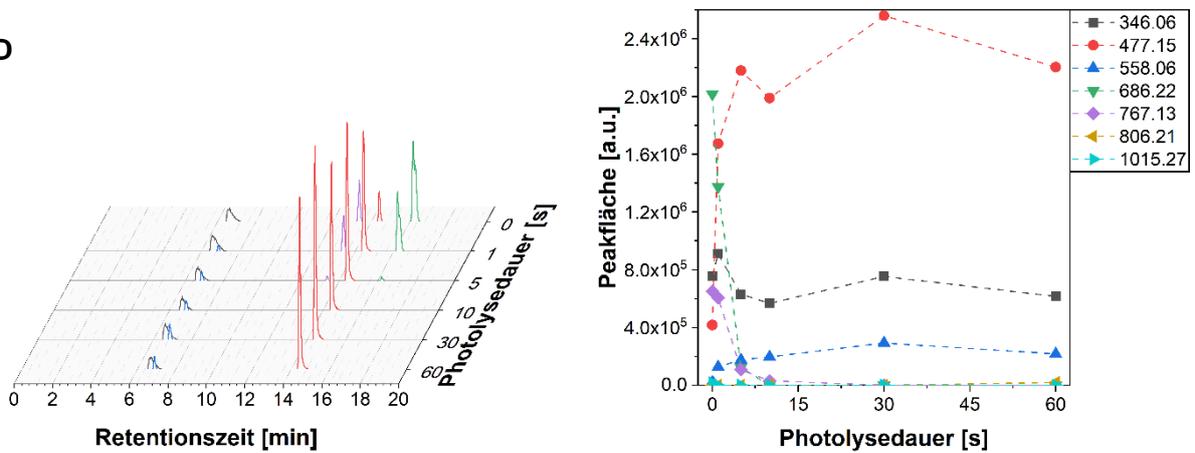


Abb. 6.81: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivat **121**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den

entsprechenden Anionen. **B**: Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C**: Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D**: Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

Anders sieht die HEK-Zellextrakthydrolyse der Verbindung **121** aus. Leichte Schwankungen des Eduktintegrals zu Beginn der Hydrolyse können vermutlich auf unvollständige Vermischung der Analyt-Stammlösung und des Zellextrakts zurückgeführt werden. Aus dem vollständigen Abbau des Edukts **121** innerhalb von vier Stunden Hydrolysedauer wurde mit dem größten Integral das ACB-maskierte MeNV-Ribosemonophosphat gebildet. Analog dazu stieg auch das Integral für AMP **40** deutlich an, weshalb bei der Zellextrakthydrolyse bevorzugt eine Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats stattfindet. Die Entstehung des demaskierten MeNV-ADPRs **69** findet bemessen an der Integralintensität kaum statt.

Da die Pyrophosphatspaltung in HEK-Zellextrakten deutlich schneller und im höheren Ausmaß als bei der PBS-Hydrolyse abläuft, wird vermutet, dass Pyrophosphatasen im Extrakt dafür verantwortlich sind. Da bei der Zellextraktherstellung HEK-Zellen ohne weitere Modifikationen verwendet wurden, könnte beispielsweise die membranständige Ectonucleotid Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 1 (ENPP1) dafür in Frage kommen, welches in Nierenzellen exprimiert wird.^[149,150] Durch das Lysieren könnte das Enzym von der Zellmembran in die Zellextrakte gelangt sein und die Extrakte somit Pyrophosphatase-Aktivität aufweisen. Diese scheinen jedoch die acetylierten Derivate **36 - 39** nicht oder nur kaum zu spalten sowie keine Aktivität gegenüber MeNV-ADPR zu besitzen. Eventuell setzen die Pyrophosphatasen nur die labileren Triesterverbindungen um, wobei die Acetylgruppen der Verbindungen **36 - 39** die Substraterkennung vermindern oder gar verhindern. Dementsprechend wird bei der anschließenden Photolyse der Hydrolyselösung hauptsächlich das ACB-Ribosemonophosphat gebildet. Das Integral für freies ADPR **1** fällt entsprechend des zu Beginn der Photolyse vergleichsweise geringen Gehalts an MeNV-ADPR **69** auch gering aus. Da das Fehlen der Acetylgruppen im Vergleich zu den acetylierten Derivaten **36 - 39** sowohl die chemische als auch die enzymatische Aktivität der Verbindung **121** negativ beeinflusst, wird von einer Verwendung der Zielstruktur **121** im zellulären Kontext abgeraten.

6.5.3 Caged ADPR-Derivate

Als Referenz zu den zuvor durchgeführten Hydrolyse- und Photolysestudien sollten auch die nicht maskierten MeNV-ADPR-Derivate **69** und **71**, das acetylierte MeNV-ADPR **65** und die ADPR-Derivate **122** und **123** mit PPG am β -Phosphat in analogen Experimenten untersucht werden (siehe **Abb. 6.82**).

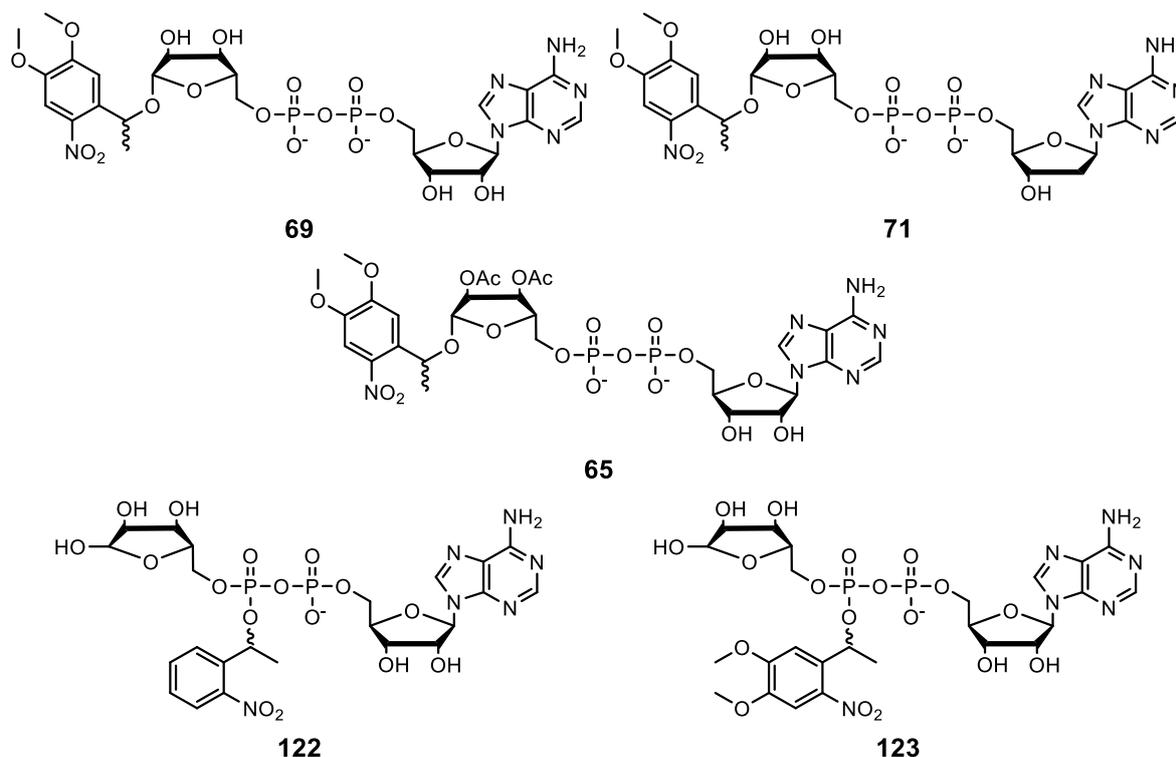


Abb. 6.82: Strukturformeln des MeNV-geschützten ADPRs **69** bzw. dADPRs **71**, des acetylierten MeNV-ADPRs **65**, des P_{β} -NPE-ADPRs **122** und P_{β} -MeNV-ADPRs **123**.

Das MeNV-ADPR **69** und dADPR-Derivat **71** sollten untersucht werden, um die Stabilität gegenüber einer potentiellen Pyrophosphatase-Aktivität zu ermitteln. Das acetylierte Derivat **65** dient der Überprüfung, ob die Deacetylierung im HEK-Zellextrakt stattfindet, da diese Reaktionen bei den Hydrolysen der acetylierten Derivate **36** - **39** kaum zu beobachten waren. Das P_{β} -NPE-ADPR **122** und P_{β} -MeNV-ADPR **123** sollen zum Vergleich der Stabilitäten der MeNV-Derivate **69** und **71** herangeführt werden. Außerdem sollen sie als Referenz zur nicht acetylierten Verbindung **121** auf die Labilität eines Phosphatresters mit nicht-acetylierter terminaler Ribose hin untersucht werden. Die Durchführung der Hydrolyse- und Photolysestudien erfolgte analog zu den zuvor durchgeführten Experimenten. Die Ergebnisse sind in **Abb. 6.83**, **Abb. 6.84**, **Abb. 6.85**, **Abb. 6.86** und **Abb. 6.87** dargestellt. Für das MeNV-ADPR **69** und das MeNV-dADPR **71** kommen neben ADPR **1** bzw. dADPR **2** als Photolyseprodukt primär nur die Produkte aus der Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats als mögliche Hydrolyseprodukte in Frage (siehe **Abb. 6.83 A** und **Abb. 6.84 A**).

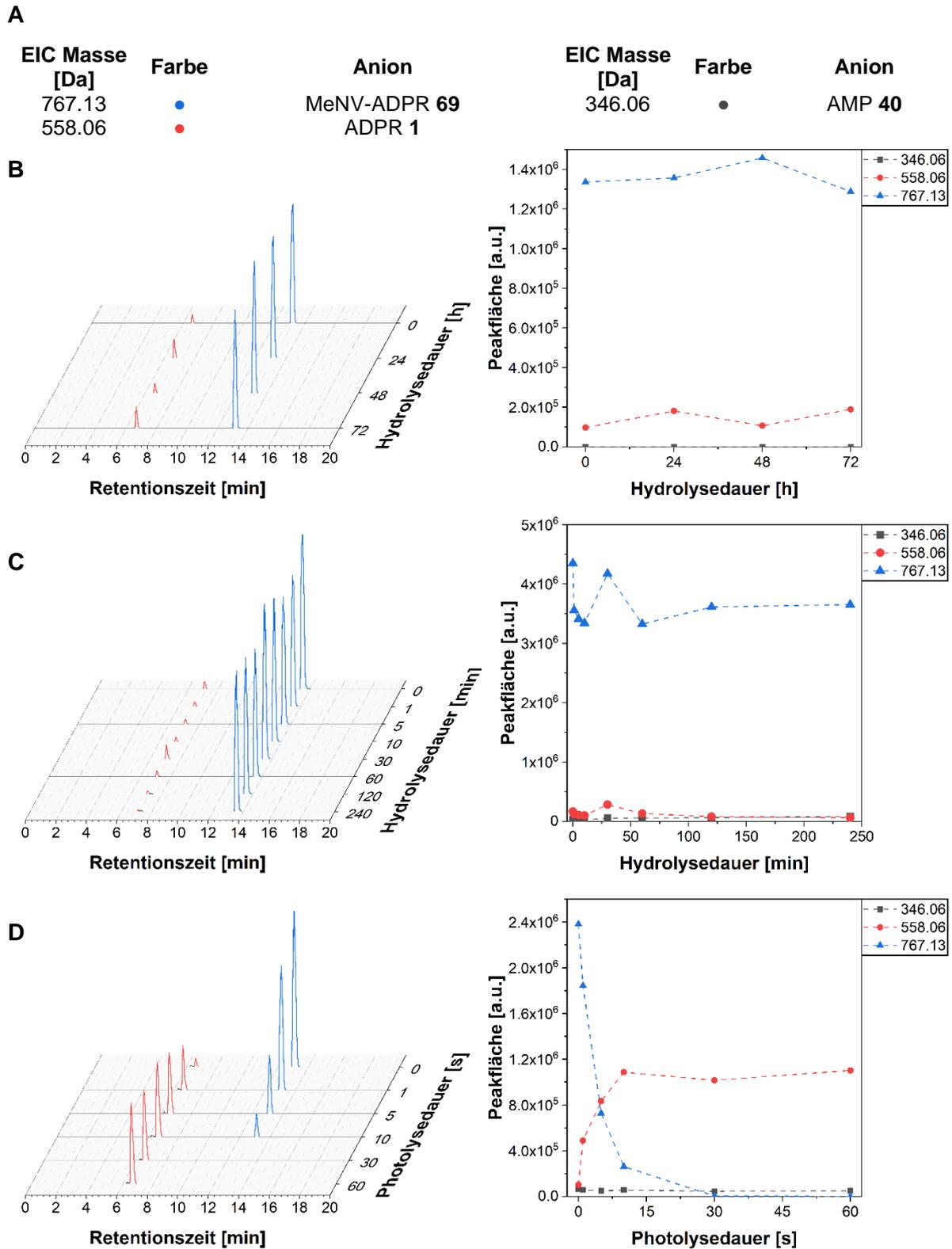


Abb. 6.83: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom *caged* ADPR-Derivat **69**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

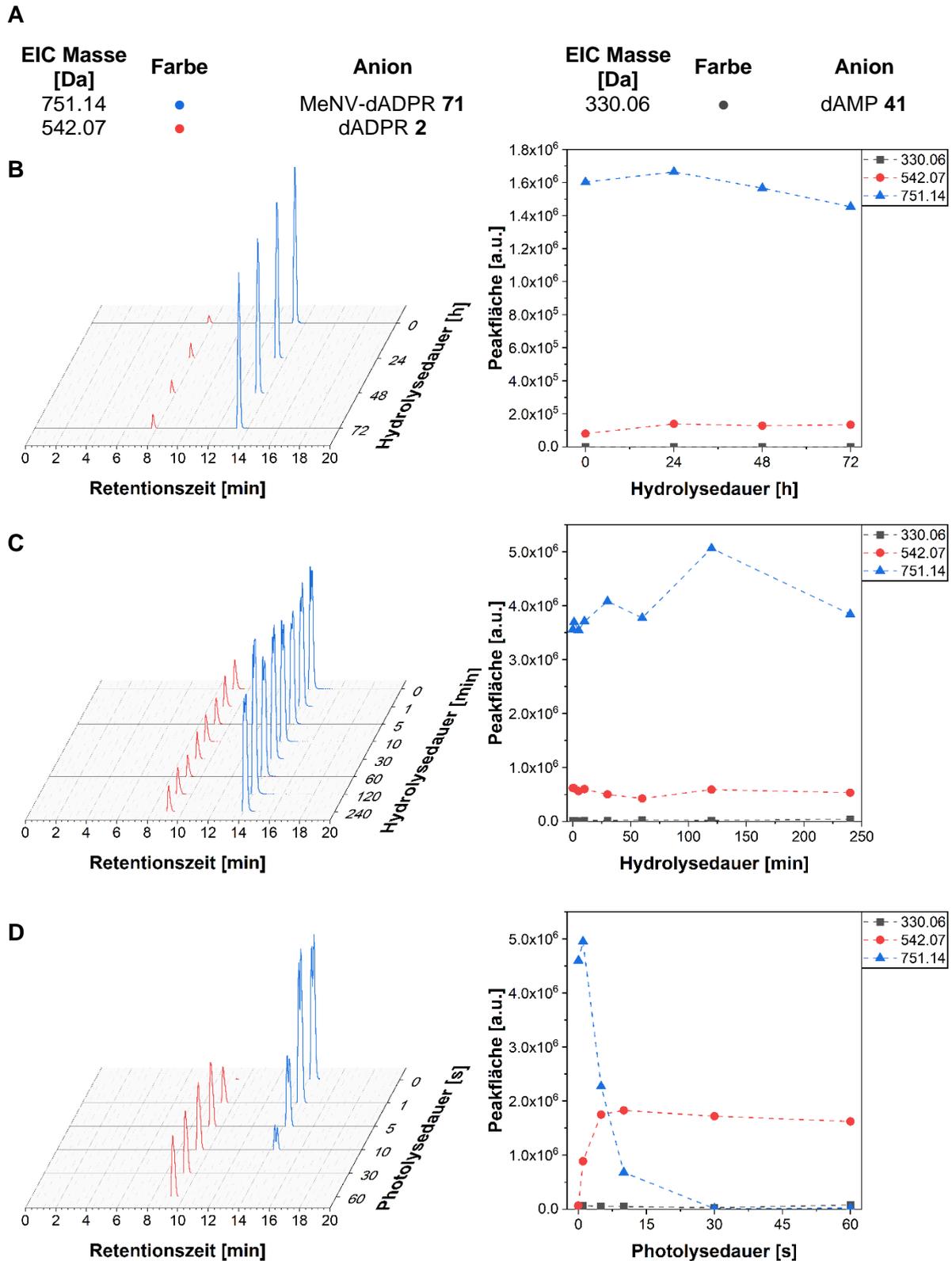


Abb. 6.84: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom *caged* dADPR-Derivat **71**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

Bei der PBS-Hydrolyse der Verbindungen **69** und **71** konnte keine Labilität gegenüber Hydrolyse im gesamten Reaktionszeitraum von 72 Stunden beobachtet werden. Einzig geringere Schwankungen der Integrale könnten durch Photolyse an Tageslicht bei der Probenaufarbeitung hervorgerufen worden sein. Ähnliches gilt auch für die HEK-Hydrolysestudien. Es konnte keine Spaltung zum AMP **40** bzw. dAMP **41** im Zellextrakt beobachtet werden. Bei der Zellextrakthydrolyse konnte für die Integrale des MeNV-ADPR **69** zu den Zeitpunkten nach 0 min und 30 min Hydrolysedauer und beim MeNV-dADPR **71** für das Integral nach einer Reaktionsdauer von 120 min abweichende Werte beobachtet werden. Diese weichen deutlich von den restlichen Werten der Eduktintegrale ab, die über die gesamte Dauer des Experiments einen einigermaßen konstanten Wert annehmen. Es könnte sich bei den Werten um Ausreißer handeln, doch da dies nur bei den Zellextrakthydrolysen beobachtet wurde, wird vermutet, dass Matrixeffekte einen Einfluss auf die Ionisierbarkeit der Analyten nehmen. Diese können durch Coelution von im Zellextrakt vorliegenden nicht-flüchtigen Verbindungen hervorgerufen werden, die bei der Probenaufarbeitung nicht entfernt wurden. In diesem Fall bestand die Probenaufarbeitung aus der Proteinfällung mit organischem Lösungsmittel und anschließender Verdünnung der Probe, was verstärkt Matrixeffekte ermöglicht. Eine Lösung hierfür stellen geeignete Extraktionsmethoden dar, die bei der Probenaufarbeitung den Gehalt an ionisierungssuppressiven oder -verstärkenden Verbindungen vermindern und damit Matrixeffekte unterdrücken können.^[148,151] Sollten Matrixeffekte aus dem Zellextrakt für die Schwankungen des Integrals verantwortlich sein, wird vermutet, dass dies durch Akkumulierung dieser Substanzen auf der analytischen Säule durch zuvor gemessene Hydrolyseproben hervorgerufen wurden. Bei einer gewünschten Quantifizierung dieser Verbindungen im Zellextrakt sollten dementsprechend interne Standards und Triplikate verwendet werden, um zu ermitteln, ob diese Schwankungen auf einen statistischen Fehler oder auftretende Matrixeffekte zurückzuführen sind.^[148,151] Da der Gehalt der *caged* ADPR-Derivate **69** und **71**, abgesehen bei den zuvor genannten Beobachtungszeitpunkten, konstant ist, wird auf eine hohe Stabilität der Verbindungen gegenüber enzymatischer Hydrolyse geschlossen. Dementsprechend konnte bei der anschließenden Photolyse ausschließlich die Entstehung von ADPR **1** bzw. dADPR **2** beobachtet werden. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die untersuchten Verbindungen **69** und **71** im beobachteten Reaktionszeitraum stabil gegenüber chemischer und enzymatischer Hydrolyse sind und über die Photolyse in die Agonisten umgesetzt werden konnten.

Die gleiche Stabilität des Pyrophosphat-Rückgrats konnte auch für das acetylierte MeNV-ADPR **65** beobachtet werden, da sowohl bei der PBS- als auch HEK-Hydrolyse keine Zunahme von AMP **40** beobachtet werden konnte. Bei der PBS-Hydrolyse konnte jedoch eine leichte Abnahme des Eduktintegrals und dafür die Zunahme eines EIC-Signals beobachtet

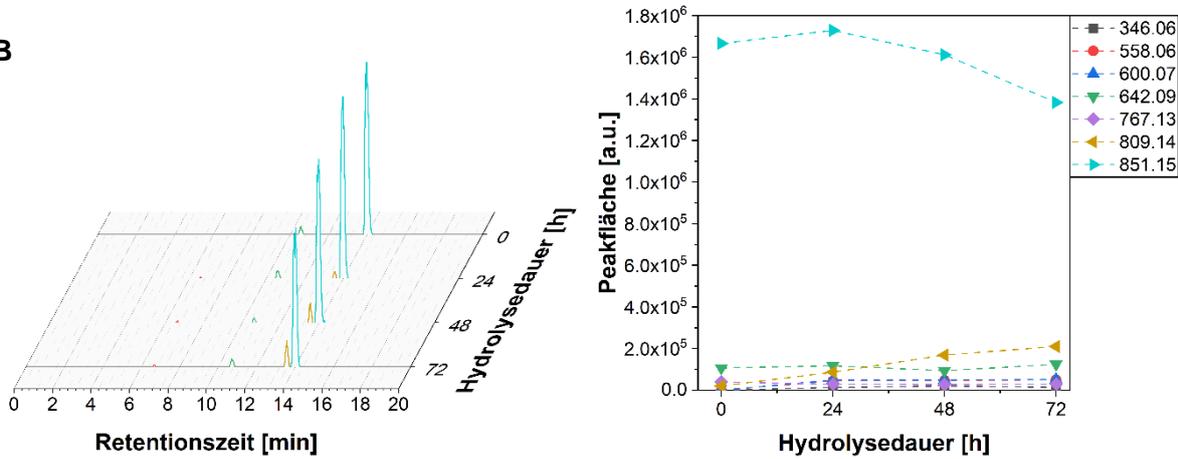
werden, welches dem einfach deacetylierten MeNV-ADPR zugeordnet wurde. Es kann jedoch geschlossen werden, dass das Edukt **65** eine ausreichende Stabilität über mehrere Tage in PBS-Puffer aufweist. Für die HEK-Hydrolyse des Edukts **65** konnte ein deutlicher Umsatz zum einfach und sogar zum vollständig deacetylierten MeNV-ADPR **69** beobachtet werden. Dies war bei der HEK-Hydrolyse der acetylierten und maskierten *caged* Derivate **36 - 39** nach Abspaltung der lipophilen Maske nicht eindeutig zu erkennen. Außerdem ist den Ergebnissen der Zellextrakthydrolyse analog zu den Zellextrakthydrolysen der Verbindungen **69** und **71** ein erhöhtes Integral für das Edukt **65** und dessen deacetyliertes ADPR-Derivat nach einer Hydrolysedauer von 60 min zu entnehmen, welches deutlich vom zu beobachtenden Trend der restlichen Messergebnisse abweicht. Da dies wieder bei der Verwendung eines biologischen Mediums auftritt, liegt auch hier die Vermutung nahe, dass auftretende Matrixeffekte die Ionisierbarkeit der mit ähnlichen Retentionszeiten eluierenden Analyten beeinflusst. Eine mögliche Verminderung des Einflusses der biologischen Matrix für eine Quantifizierung der Analyten wurde zuvor bereits erwähnt. Die Hydrolyse wurde, wie die anderen Hydrolyseexperimente, nach vier Stunden abgebrochen, damit genug Reaktionslösung für die Reaktionsverfolgung der Photolyse vorhanden war. Diese zeigte dementsprechend erwartungsgemäß hauptsächlich die Bildung des zweifach acetylierten ADPR-Derivats **72**, jedoch auch die Bildung von monoacetyliertem ADPR und freiem ADPR **1**. Daraus kann geschlossen werden, dass die Deacetylierungsreaktion durch die enzymatische Hydrolyse schneller zum gewünschten MeNV-ADPR **69** als durch chemische Hydrolyse führte, aber diese trotzdem eine Inkubationszeit von mehreren Stunden benötigt.

Es wurde bereits bei der Synthese der *caged* ADPR-Derivate mit einer β -Phosphat-Maskierung **122** und **123** vermutet, dass diese deutlich labiler als die nicht am Phosphat maskierten ADPR-Derivate sind. Dies dient als Begründung, dass die Zielverbindungen **122** und **123** auch nur verunreinigt und für das NPE-Derivat **122** zusätzlich nur in geringen Ausbeuten erhalten werden konnten. Dies wird für beide Derivate **122** und **123** bereits bei der PBS-Hydrolyse deutlich, da bereits nach 24 Stunden Hydrolysedauer keine Edukte mehr zu beobachten waren. Bei der NPE-geschützten Verbindung **122** konnte ausschließlich die Bildung von AMP **40** und dem NPE-geschützten Ribosemonophosphat beobachtet werden. Da kein ADPR **1** entstanden ist, wird daraus geschlossen, dass die Labilität der Verbindung **122** auf die Hydrolyseempfindlichkeit der Pyrophosphat-Bindung zurückzuführen ist. Eventuell bewirkt die Methylgruppe an der Photogruppe eine zusätzliche sterische Spannung am Phosphatriester, weshalb dieser labiler als der Triester einer Verbindung mit einer bioreversiblen Maske ist.

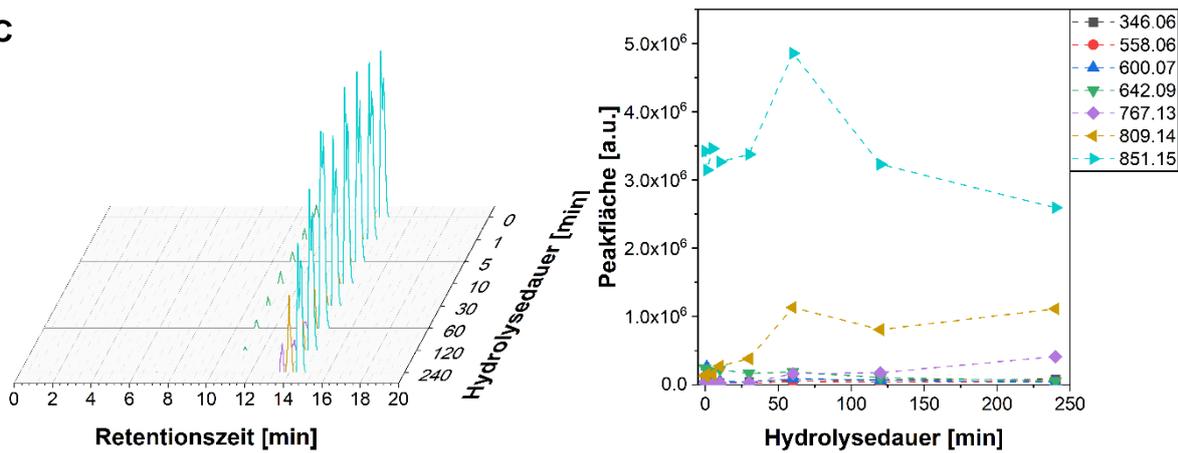
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
851.15	●	MeNV-DiAc-ADPR 65	600.07	●	Ac-ADPR
809.14	●	MeNV-Ac-ADPR	558.06	●	ADPR 1
767.13	●	MeNV-ADPR 69	346.06	●	AMP 40
642.09	●	DiAc-ADPR 72			

B



C



D

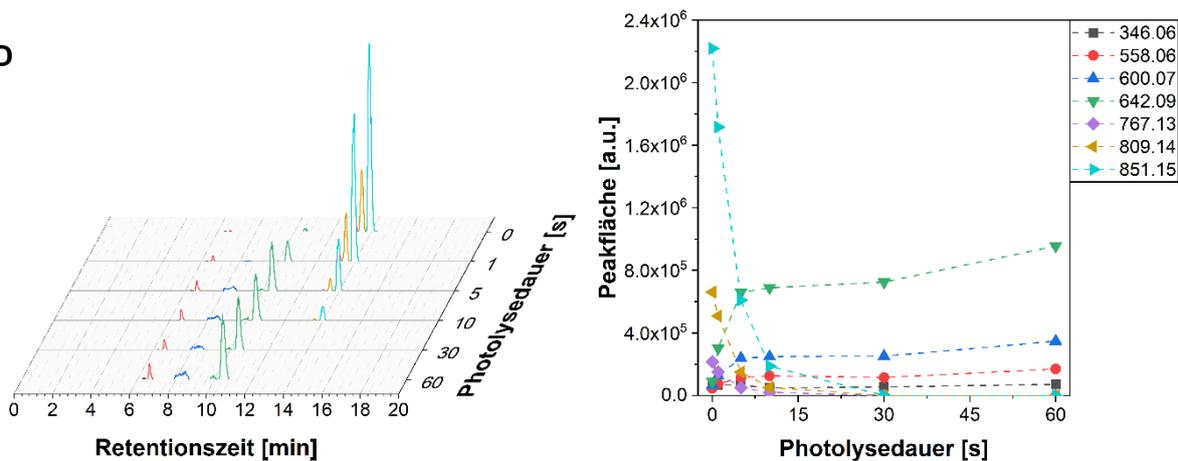


Abb. 6.85: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom acetylierten *caged* ADPR-Derivat **65**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

Beim entsprechenden MeNV-Derivat ist ebenfalls hauptsächlich die Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats zu beobachten, jedoch kann auch ein leichter Anstieg der Konzentration an freiem ADPR **1** beobachtet werden, was auf eine Photolyse an Tageslicht innerhalb des Hydrolysezeitraums zurückgeführt werden könnte. Beide maskierten Verbindungen zeigen jedoch unterschiedliche Verhalten in der HEK-Zellextrakthydrolyse. Das NPE-Derivat **122** wird während der Hydrolyse abgebaut, sodass das Integral des Edukts nach vier Stunden Inkubationszeit nur noch 25% des Startwerts entspricht. Dabei wird das Edukt auch nur am Pyrophosphat gespalten und die Monophosphate gebildet. Es ist jedoch nicht eindeutig, ob diese Spaltungsreaktion ausschließlich durch eine chemische Hydrolyse hervorgerufen wird, oder ob auch zusätzlich ein Abbau durch Enzymabbau vorliegt. Nach Abbruch der Hydrolyse wurde bei 365 nm photolysiert, und erwartungsgemäß wurde der restliche Anteil an Edukt **122** zu ADPR **1** umgesetzt. Hauptsächlich findet jedoch der photolytische Abbau des *caged* Ribosemonophosphats statt. Bei der HEK-Hydrolyse des P_{β} -MeNV-Derivats **122** findet auch ein schneller Abbau statt, sodass es nach der Hydrolysedauer von vier Stunden fast komplett abgebaut wird. Doch während bei den PBS-Hydrolysen der *caged* Derivate **122** und **123** sowie der HEK-Hydrolyse des NPE-Derivats **122** das Integral des *caged* Ribosemonophosphats am stärksten ansteigt, ist dies bei der HEK-Hydrolyse des MeNV-Derivats **123** für das Integral des freien ADPRs **1** der Fall. Dies könnte darauf schließen lassen, dass es bei der enzymatischen Hydrolyse des Triesters zur Abspaltung der Photogruppe statt zur Spaltung des Diphosphats kommt. Es kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, dass das Edukt über die Zeit der Hydrolyse photolysiert wurde und deshalb der Anteil an ADPR **1** steigt, jedoch konnte dies nicht bei der PBS-Hydrolyse beobachtet werden. Die anschließende Photolyse zeigt erneut wie beim NPE-Derivat einen leichten Anstieg an freiem ADPR **1** durch die Photolyse des übrigen Anteils Edukt **123**, doch hauptsächlich wird das *caged* Ribosemonophosphat abgebaut.

Zusammenfassend wird aus den Ergebnissen geschlossen, dass eine photolabile Maskierung des β -Phosphats aufgrund der hohen Labilität in wässrigem Medium nicht sinnvoll ist bzw. eine Anwendung im zellulären Kontext nicht geraten wird. Aufgrund dessen wurde auch auf eine Wiederholung der PBS-Hydrolyse der Edukte **122** und **123** zur genauen Bestimmung des Zeitpunkts der vollständigen Degradation verzichtet.

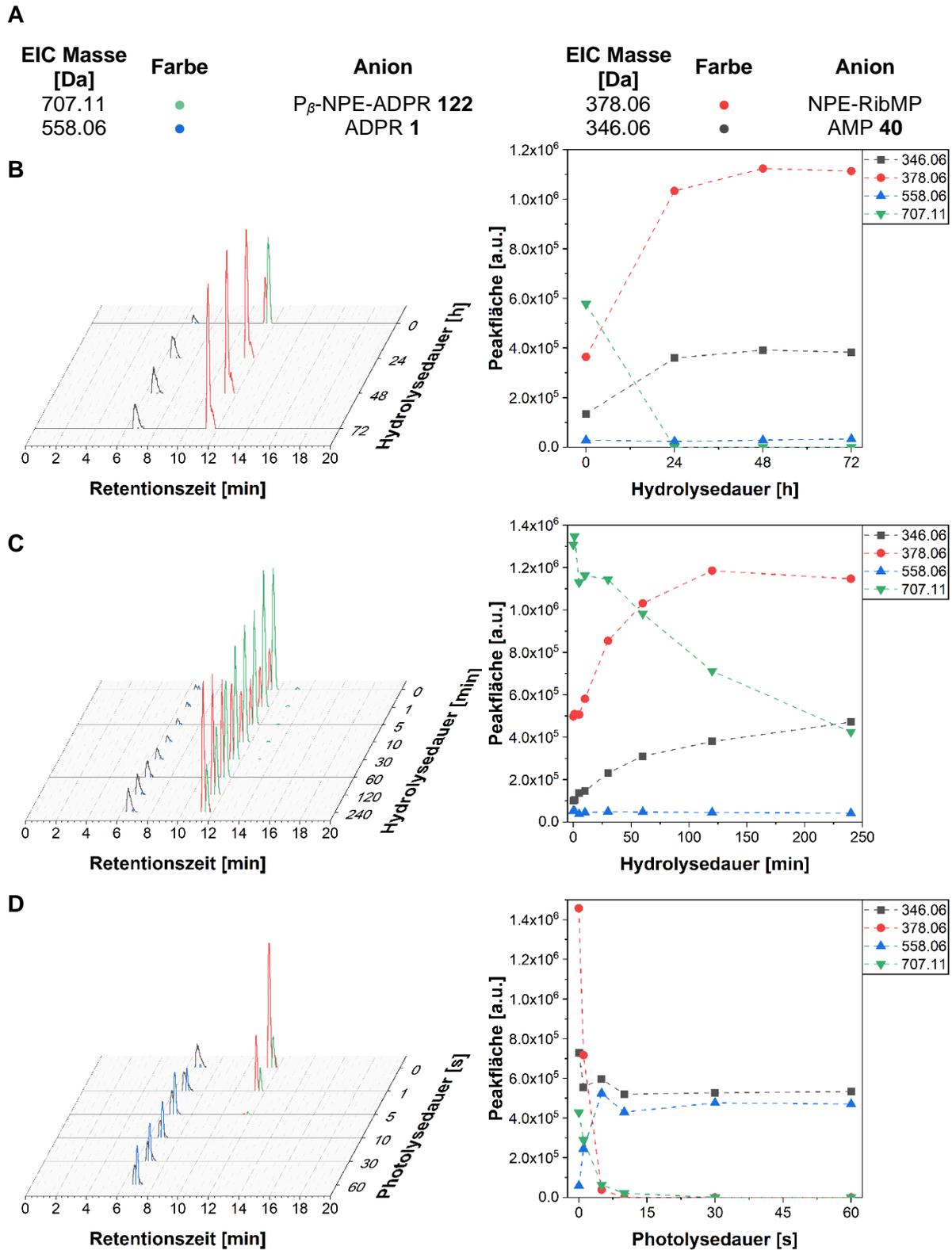


Abb. 6.86: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom P_β-NPE-ADPR-Derivat 122. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

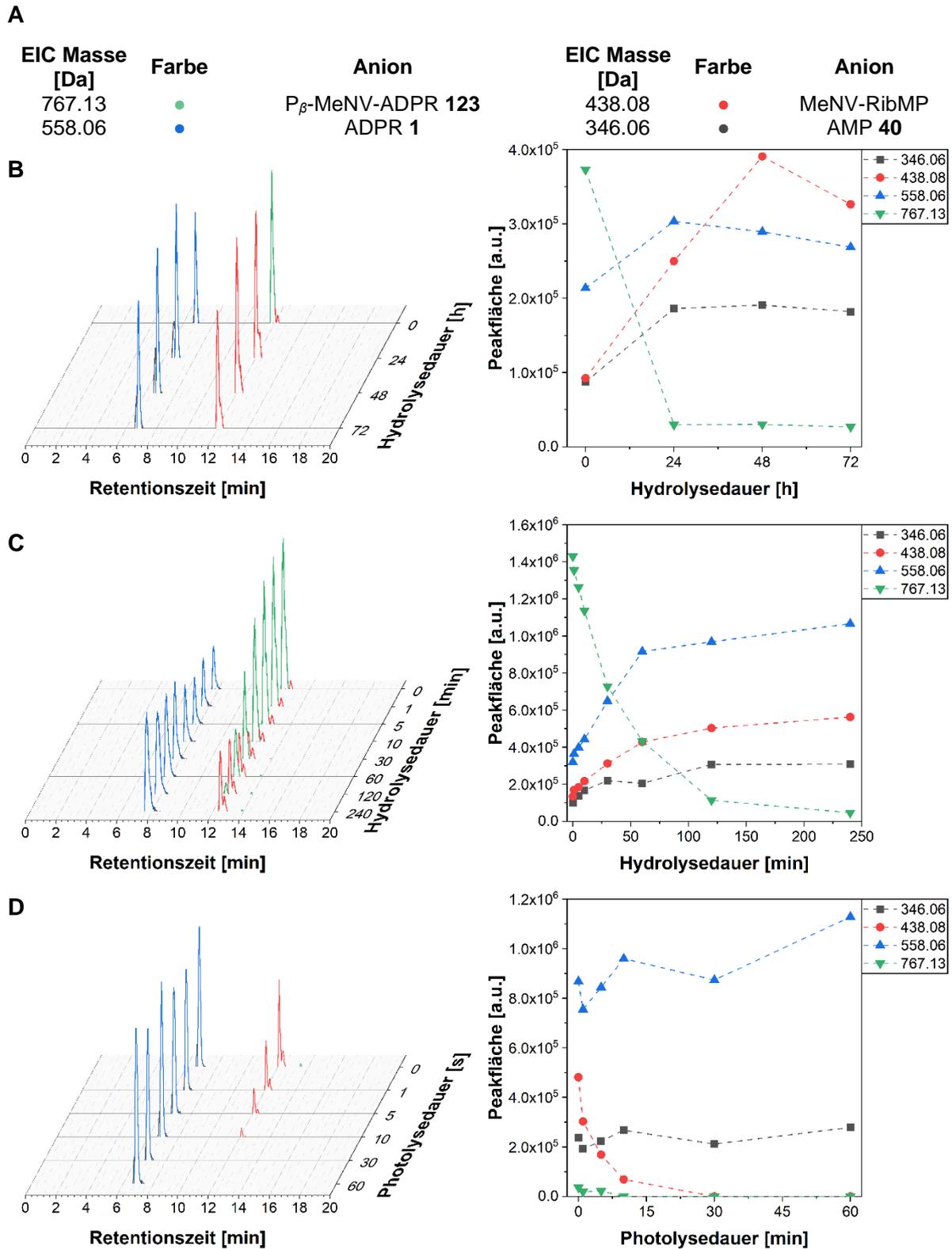


Abb. 6.87: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom P_β-MeNV-ADPR-Derivat **123**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

6.5.4 Bioreversible *caged* ADPR-Derivate

Abschließend wurden die gleichen Hydrolyseexperimente durch LC-MS-Verfolgung auch mit den Heptylestern **179** und **181** sowie dem Heptanoyl-ester **181** durchgeführt (siehe **Abb. 6.88**). Die Durchführung erfolgte erneut analog zu den in Kapitel 7.1.6 beschriebenen Vorschriften. Als mögliche Hydrolyseprodukte kommen für die Heptylester entweder AMP **40** als Pyrophosphat-Spaltprodukt oder analoge Butyrate aus den Esterhydrolysen infrage. Für den Heptanoyl-ester **181** ist ähnliches zu erwarten, da für das Produkt der Esterhydrolyse das analoge Butylalkohol-Derivat gebildet werden sollte. Die Ergebnisse sind in **Abb. 6.89**, **Abb. 6.90** und **Abb. 6.91** dargestellt.

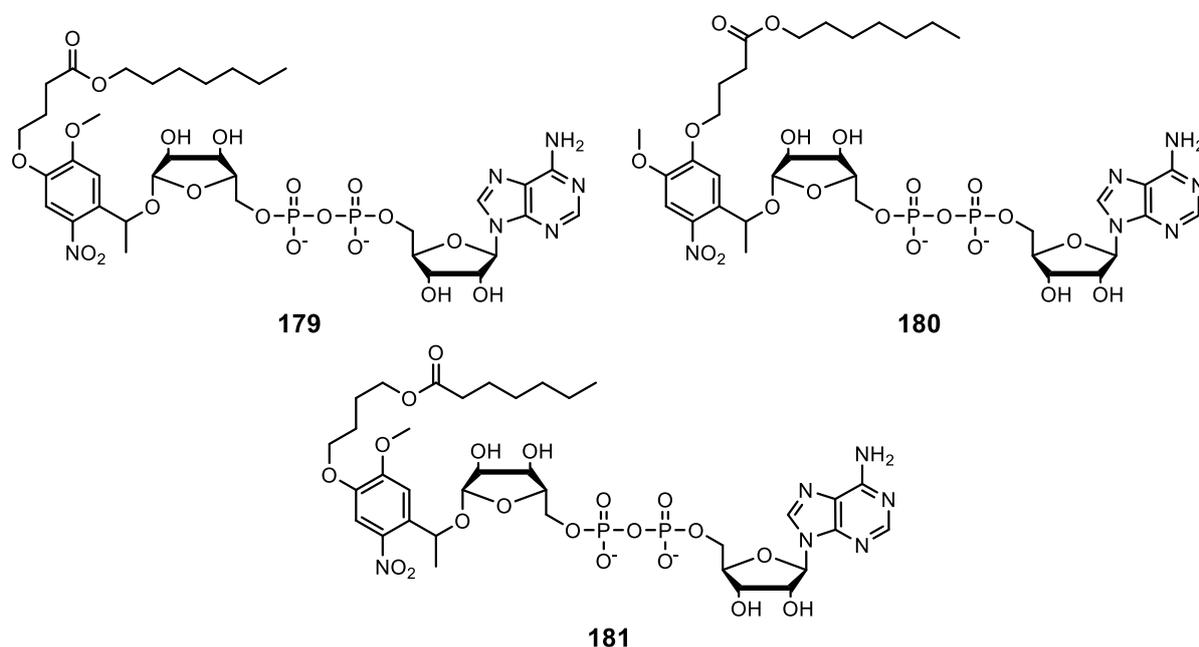


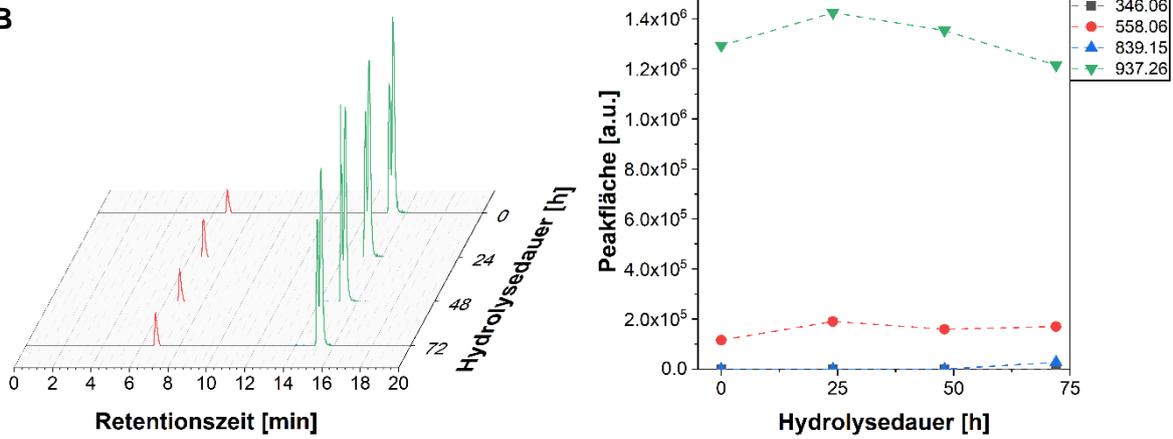
Abb. 6.88: Strukturformeln der bioreversiblen *caged* ADPR-Derivate **179** - **181** (siehe Kapitel 6.5.4).

Sowohl in der PBS-Hydrolyse als auch in der HEK-Hydrolyse zeigten die Heptylester **179** und **180** eine sehr hohe Stabilität und es war keine Reaktion des Edukts zu beobachten. Während das Eduktintegral des Heptylesters **180** über den Hydrolysezeitraum weitestgehend konstante Werte zeigte, konnte für den Heptylester **179** zu den beobachteten Zeitpunkten bei 120 min und 240 min deutlich abweichende Werte beobachtet werden. Da sich der beobachtete ADPR **1**-Gehalt entsprechend nicht verändert, wird ein Einfluss durch die Photolyse bei Tageslicht ausgeschlossen. Es liegt erneut die Vermutung nahe, dass die Zellextrakte als biologische Matrix Einfluss auf die Ionisierbarkeit nehmen. Es konnte keine enzymatisch-induzierte Spaltung der Estergruppen beobachtet werden, weshalb Ester an der Photogruppe auf Basis einer Butyrat-Gruppe wesentlich stabiler als die AB-Masken der zuvor hydrolysierten Zielverbindungen sind. Die Photolyse der beiden Verbindungen bewirkt dementsprechend die direkte Freisetzung von freiem ADPR **1**.

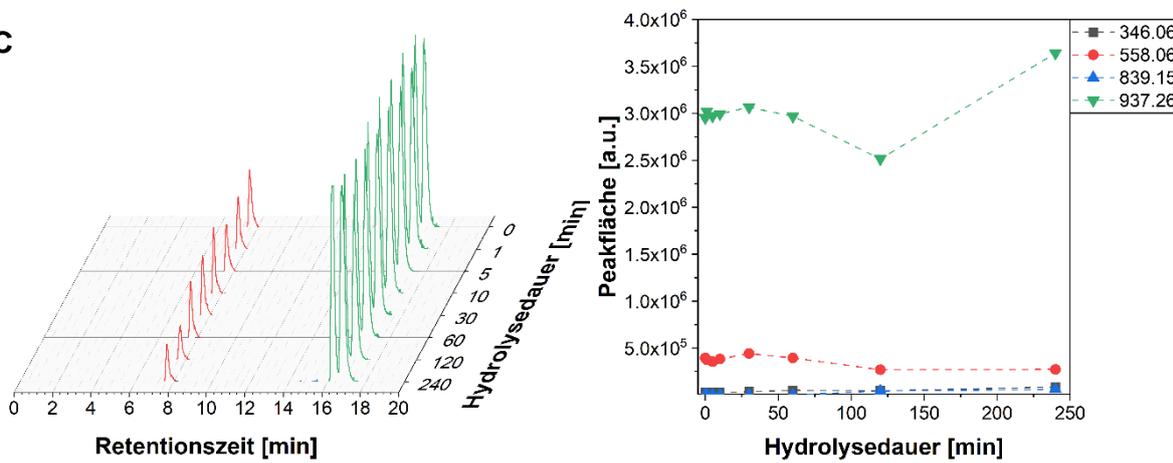
A

EIC Masse [Da]	Farbe	Anion	EIC Masse [Da]	Farbe	Anion
937.26	●	Heptylbutyrat-caged ADPR 179	558.08	●	ADPR 1
839.15	●	Butyrat-caged ADPR	346.06	●	AMP 40

B



C



D

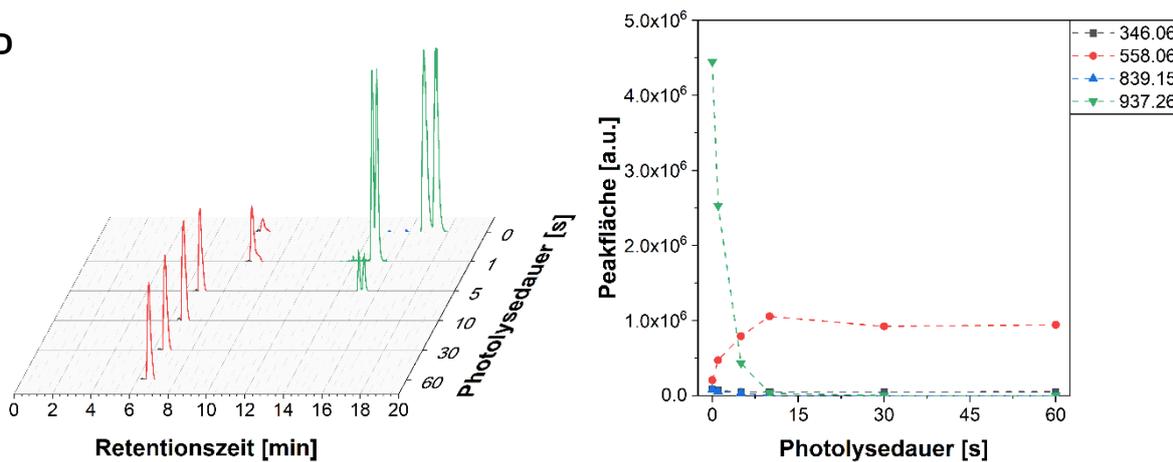


Abb. 6.89: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom Heptyl-ADPR-Derivat **179**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

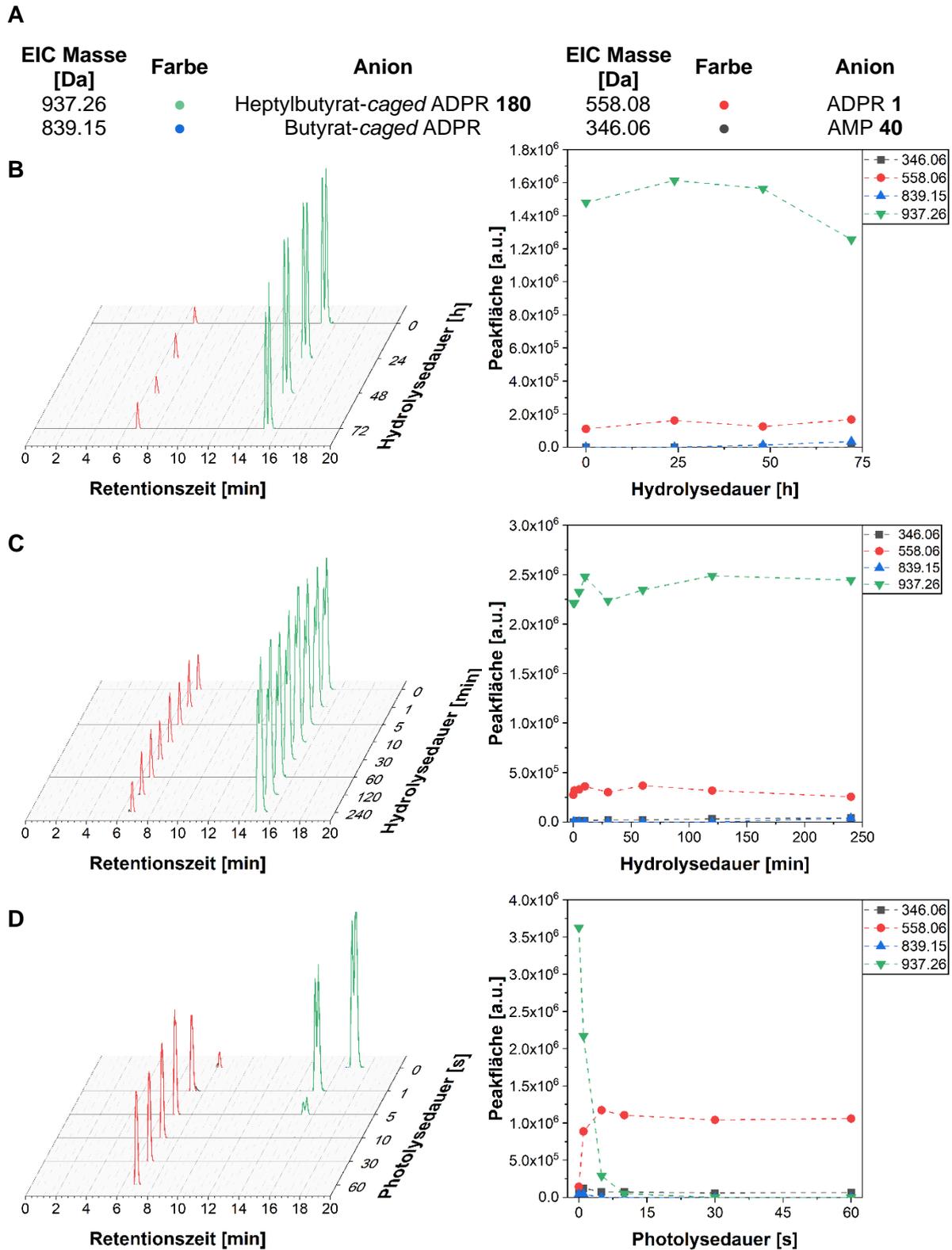


Abb. 6.90: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom Heptyl-ADPR-Derivat **180**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

Der Heptanoylester **181** weist eine ähnlich hohe Stabilität zu den Heptylestern **179** und **180** in PBS-Puffer auf, da über den Hydrolysezeitraum von vier Tagen kein EIC-Signal des entsprechenden Butylalkohols beobachtet werden konnte (siehe **Abb. 6.91 B**). Eine Erklärung für Integralschwankungen können auftretende Photolysen bei der Probenaufarbeitung sein. Zu Beginn der HEK-Hydrolyse des Heptanoylesters sind leichte Schwankungen der betrachteten Integrale zu erkennen, die vermutlich durch unzureichende Mischung der Analyt-Stammlösung mit den Zellextrakten zurückzuführen sind. Im Gegensatz zur HEK-Hydrolyse der Heptylester **179** und **180** konnte jedoch bei der HEK-Hydrolyse des Heptanoylesters **181** die Bildung des Esterhydrolyseprodukts beobachtet werden. Durch die Photolyse-induzierten Schwankungen des Eduktintegrals kann jedoch kein signifikanter Abbau des Edukts zur Bildung des Hydrolyseprodukts beobachtet werden. Die enzymatische Spaltung des Esters scheint dementsprechend über mehrere Stunden abzulaufen, jedoch findet bei dieser Verbindung, im Gegensatz zu den Heptylestern **179** und **180**, eine Esterspaltung statt. Dies stellt somit einen potentiellen „lock-in“-Effekt dieser Verbindung durch Lipophilieverminderung nach Verlust der Alkylkette dar. In der Photolyse konnte die erwartbare Freisetzung von freiem ADPR **1** aus dem Edukt **181** beobachtet werden. Zusätzlich dazu konnte aber auch die Photolyse des Hydrolyseprodukts gezeigt werden, welches ebenfalls mit zunehmender Photolysedauer an Integralintensität abnimmt.

Die bioreversiblen *caged* ADPR-Derivate **179** - **181** zeigen im Gegensatz zu den bioreversibel-maskierten ADPR-Derivaten eine hohe Stabilität in PBS-Puffer, jedoch konnte nur für das Heptanoyl-Derivat **181** auch eine enzymatische Spaltung des Esters beobachtet werden. Eine enzymatische Hydrolyse der Heptylester **179** und **180** wurde nicht beobachtet, jedoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass nach der zellulären Aufnahme eine Spaltung erfolgen kann. Die Spaltung des Esters dient in erster Linie der Ermöglichung eines „lock-in“-Effekts zur Akkumulierung des *caged* ADPRs in den Zellen. Da die Freisetzung vom Agonisten ADPR **1** jedoch auch ohne vorige Hydrolyse der Estergruppen erfolgen kann, ist eine langsame Spaltung der Estergruppen kein Nachteil, um eine passive Aufnahme zu ermöglichen. Die Lipophilie der Verbindungen kann trotz stabiler Ester angepasst werden, um eine möglichst hohe Permeation in die Zelle zu gewährleisten. Dementsprechend wäre trotz stabiler Estergruppen eine Anwendung der bioreversiblen Ester **179** - **181** im zellulären Kontext möglich.

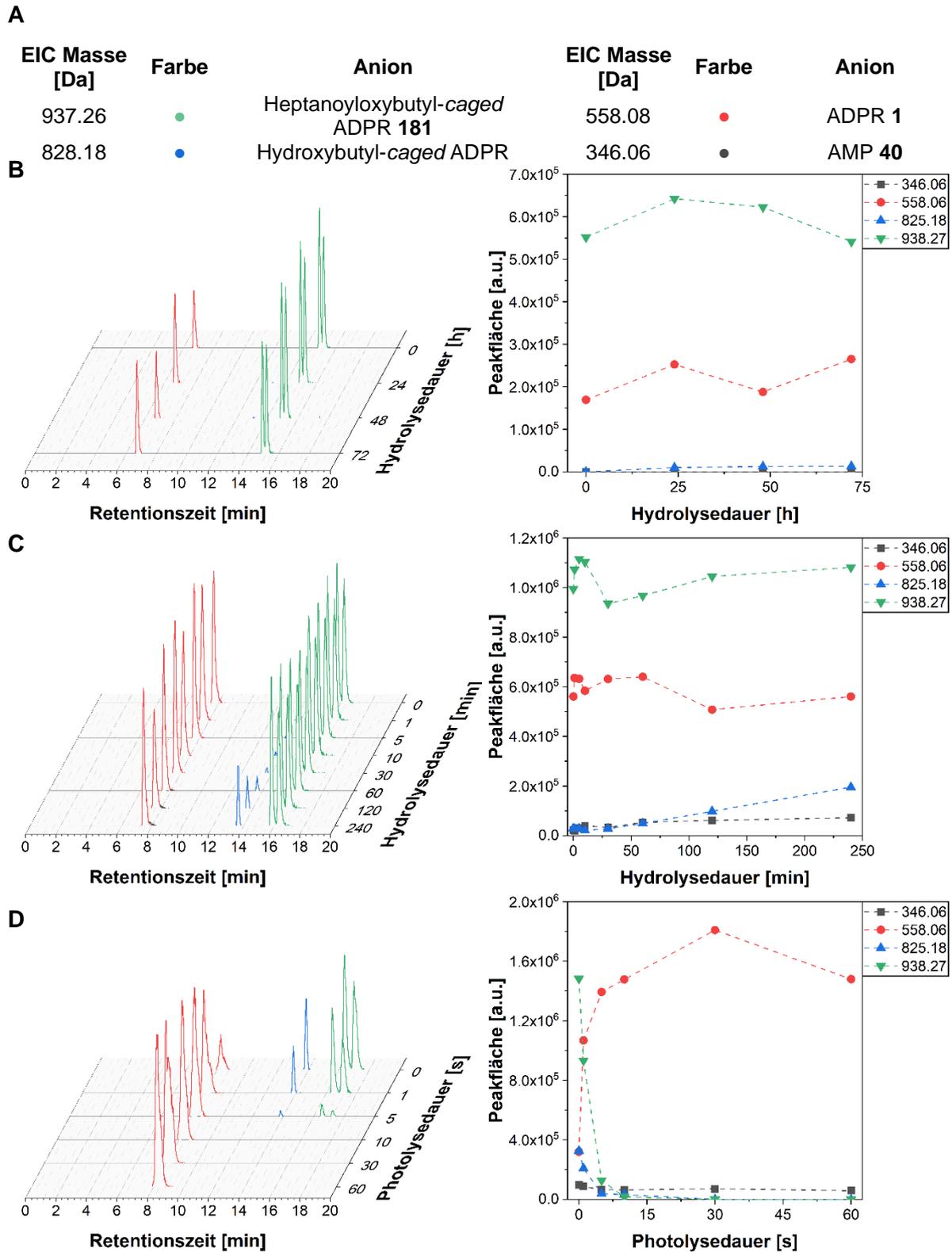


Abb. 6.91: LC-MS-Ergebnisse der PBS- und HEK293-Hydrolyse und Photolyse bei 365 nm vom Heptanoyl-ADPR-Derivat **181**. **A:** Zuordnung der verwendeten EIC-Massen zu den entsprechenden Anionen. **B:** Ergebnisse der PBS-Hydrolyse. **C:** Ergebnisse der HEK-Hydrolyse. **D:** Ergebnisse der Photolyse nach HEK-Hydrolyse.

Anhand der durchgeführten Hydrolyse- und Photolyseexperimente konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die verwendete LC-MS-Methode als Analysemethode zur chromatographischen Trennung und qualitativen Identifizierung der entsprechenden Produkte geeignet ist. Die hier erhaltenen Ergebnisse dienen ausschließlich der qualitativen Analyse der Hydrolyseexperimente, stellen aber eine Basis für Quantifizierungsexperimente dar. Die Probenaufarbeitung durch Proteinfällung mit Methanol und anschließender Verdünnung mit Wasser scheint prinzipiell geeignet, jedoch konnten primär bei den unmaskierten *caged* ADPR-Derivaten vereinzelt vom Trend abweichende Integralwerte beobachtet werden, die eventuell auf Matrixeffekte des HEK-Zellextrakts zurückzuführen sind. Um dem bei einer quantitativen Analyse dieser Hydrolyse- und Photolyseexperimente entgegenzuwirken, könnte eine angepasste Aufarbeitung mittels geeigneter Extraktionsmethoden auftretende Matrixeffekte vermindern.^[151] Zudem sollte die Verwendung von Triplikaten sowie einem geeigneten internen Standard eine statistisch signifikante Quantifizierung der einzelnen Analyten ermöglichen.

6.6 Fazit und Ausblick

Auf Basis der Erkenntnisse von PAHNKE und RUTHENBECK ist es gelungen, *caged* ADPR-Verbindungen zu synthetisieren, dessen Ladung für eine höhere Lipophilie der Verbindungen durch eine bioreversible OB-Gruppe maskiert wurde. Die Synthese erfolgte zunächst unter Verwendung von Acetylschutzgruppen an der terminalen Ribose, woraus im abschließenden Kupplungsschritt die maskierten *caged* ADPR-Verbindungen **36** - **39** mit Ausbeuten von 14% - 21% erhalten werden konnten (siehe Kapitel 6.1.3). Es wurden beispielhaft am MeNV-geschützten ADPR-Derivat **37** Hydrolyse- und Photolyseexperimente durchgeführt (siehe Kapitel 6.1.5). In der PLE-Hydrolyse konnte die erfolgreiche Abspaltung der bioreversiblen Gruppe, jedoch keine Abspaltung der Acetylgruppen beobachtet werden. Durch die Hydrolyse in CEM/0 Zellextrakten konnte jedoch nach mehreren Stunden Inkubationszeit die erfolgreiche Abspaltung der Acetylgruppen zum MeNV-ADPR **69** gezeigt werden. Den Hydrolysestudien angeschlossene Photolyseexperimente zeigten eine erfolgreiche Abspaltung der Photogruppe, was nach der CEM/0-Zellextrakthydrolyse zur Freisetzung von freiem ADPR **1** bewirkte.

Es erfolgte die Synthese der unmaskierten *caged* ADPR-Verbindungen **69** und **71** (siehe Kapitel 6.2.3 und 6.2.4). Diese konnten nach Synthese des *caged* Ribosemonophosphats **80** durch Kupplung des Monophosphats mit AMP **40** bzw. dAMP **41** erhalten werden. Die Kupplung erfolgte hierbei mit Ausbeuten von 44% - 77% durch die Aktivierung der nucleosidischen Monophosphate zu den entsprechenden Methylimidazoliden mit Trifluoressigsäureanhydrid und Methylimidazol. In anschließenden Photolyseexperimenten der *caged* ADPR-Derivate **69** und **71** konnte die erfolgreiche Abspaltung der MeNV-

Photogruppe sowohl bei 365 nm als auch bei 405 nm gezeigt werden (siehe 6.2.5). Da das agonistische Verhalten von 2“,3“-diacetyliertem ADPR **72** nicht bekannt ist, sollte dies zum Einsatz in Assays zur Bestimmung der Aktivität dargestellt werden (siehe Kapitel 6.2.4). Dafür wurde sowohl die Synthese durch Photolyse des acetylierten MeNV-ADPRs **65** als auch eine Photolyse-unabhängige Synthese durch reduktive Abspaltung einer Benzylschutzgruppe an der 1“-Position eines entsprechend geschützten ADPR-Derivats **98** untersucht. Dafür wurden die geschützten ADPR-Derivate **65** und **98** ebenfalls in Kupplungsreaktionen der geschützten Ribosemonophosphate **99** und **100** mit dem Methylimidazolidat von AMP **40** mit Ausbeuten von 48% bzw. 31% erhalten. Die anschließende Photolyse des *caged* ADPRs **65** sowie die Hydrogenolyse der Benzylgruppe des ADPR-Derivats **98** erfolgte in beiden Fällen unvollständig, sodass Edukte reisoliert wurden. Es konnte jedoch in beiden Fällen das acetylierte ADPR **72** in Ausbeuten von 28% - 38% isoliert werden.

Da bei der CEM/0-Zelleextrakthydrolyse für die Abspaltung der Acetylgruppen der bioreversibel-maskierten Derivate **36** - **39** eine vielfach längere Inkubationszeit als zur Abspaltung der bioreversiblen Maske benötigt wird, sollte ein analoges bioreversibel-maskiertes ADPR-Derivat synthetisiert werden, welches keine Acetylgruppen enthält. Hierfür wurden 2“,3“-silylierte ADPR-Verbindungen hergestellt, die in einer abschließenden Desilylierungsreaktion zu den bioreversibel-maskierten ADPR-Verbindungen umgesetzt werden sollten, doch es konnte stets die Abspaltung der bioreversiblen OB-Maske beobachtet werden. Dementsprechend wurde statt eine OB-Maske eine ACB-Maske verwendet und das Desilylierungsreagenz TBAF mit Essigsäure neutralisiert. Dabei konnte mit einer Ausbeute von 22% das ADPR-Derivat **121** synthetisiert werden, welches ausschließlich eine photolabile Schutzgruppe an der terminalen Ribose und die bioreversible ACB-Gruppe zur Maskierung des β -Phosphats enthält.

Da eine erfolgreiche Abspaltung von Schutzgruppen am β -Phosphat-maskierten Derivat **121** durchgeführt werden konnte, sollten ADPR-Referenzsubstanzen mit photolabiler Maskierung des β -Phosphats synthetisiert werden (siehe Kapitel 6.3.2). Hierfür sollte eine NPE-Schutzgruppe zur Synthese des NPE-ADPR-Derivats **122** als Referenz zur literaturbekannten NPE-*caged* ADPR-Verbindung **34** (siehe Kapitel 4.6) verwendet sowie das analoge MeNV-Derivat **123** hergestellt werden. Beide Verbindungen **122** und **123** konnten via Phosphoramiditkupplung hergestellt werden. Die Zielverbindungen konnten nicht vollständig isoliert werden, da beide Verbindungen hohe Labilitäten in wässrigen Medien aufwiesen. Trotz vorhandener Verunreinigungen wurden die P_{β} -photolabil maskierten Derivate **122** und **123** photolysiert (siehe Kapitel 6.3.3). Während bei der Photolyse bei 365 nm die Abspaltung der NPE- und der MeNV-Schutzgruppe ähnlich schnell verliefen, konnte durch eine dreifach schnellere Abspaltung die MeNV-Schutzgruppe im Vergleich zur NPE-Gruppe für Photolysen bei 405 nm als vorteilhaftere Schutzgruppe ermittelt werden.

Da für die Phosphattriester der maskierten *caged* ADPR-Verbindungen **36 - 39** und **121** Indizien zur Labilität des Triesterester beobachtet werden konnten, sollte eine Kombination der bioreversiblen Maskierung und der photolabilen Schutzgruppe erfolgen (siehe Kapitel 6.4). Diese sollte die Stabilität und Lipophilie eines entsprechenden *caged* ADPRs erhöhen, aber zusätzlich die Möglichkeit zur bioreversiblen Abspaltung der lipophilen Gruppe ermöglichen. Hierfür wurden die Heptylester **179** und **180** sowie der Heptanoylester **181** synthetisiert, die in den anschließenden Photolysen innerhalb weniger Sekunden die direkte Freisetzung von ADPR **1** ermöglichen. Da die photolytische Freisetzung von ADPR **1** bei den bioreversiblen *caged* ADPR-Derivaten **179 - 181** im Gegensatz zu den bioreversibel-maskierten Derivaten **36 - 39** und **121** unabhängig von der Spaltung der Ester erfolgt, stellt die Kombination der Schutzgruppen einen erheblichen Vorteil für eine zelluläre Anwendung dar.

In abschließenden LC-MS-verfolgten PBS-Hydrolysen und HEK-Zellextrakthydrolysen mit anschließenden Photolysen aller Zielverbindungen (siehe Kapitel 6.5.4) konnte für die bioreversibel-maskierten Derivate **36 - 39** eine ausreichende Stabilität in PBS-Puffer sowie eine erfolgreiche Abspaltung der lipophilen Maske im HEK-Zellextrakt beobachtet werden. Eine enzymatische Abspaltung der Acetylgruppen war innerhalb des Hydrolysezeitraums kaum zu erkennen, weshalb bei der anschließenden Photolyse hauptsächlich das zweifach acetylierte ADPR **72** beobachtet wurde. Dem gegenüber steht das nicht-acetylierte maskierte *caged* ADPR-Derivat **121**, welches in PBS-Puffer durch chemische Hydrolyse der bioreversiblen Maske deutlich labilere Eigenschaften zeigte. In der HEK-Zellextrakthydrolyse konnte jedoch hauptsächlich die Spaltung des Pyrophosphat-Rückgrats beobachtet werden, was bei den acetylierten ADPR-Derivaten **36 - 39** zu einem deutlich geringeren Anteil beobachtet werden konnte. Eine Anwendung des nicht-acetylierten Derivats im zellulären Kontext wird dementsprechend nicht empfohlen.

Die Hydrolyseexperimente des MeNV-ADPR **69** und MeNV-dADPRs **71** zeigten eine deutliche Stabilität gegenüber chemischer und enzymatischer Hydrolyse, weshalb nach abschließender Photolyse die Freisetzung von freiem ADPR **1** beobachtet werden konnte. Die Hydrolysestudien am acetylierten MeNV-ADPR **65** bestätigten die Abspaltung der Acetylgruppen im Zellextrakt, wenn dies auch über mehrere Stunden Inkubationszeit erfolgen muss. Die Hydrolyse der P_{β} -*caged* ADPR-Derivate **122** und **123** zeigte sowohl in der PBS- als auch in der HEK-Hydrolyse eine deutliche Zersetzung des Produkts zu den Monophosphaten, weshalb diese Verbindungen, die analog zur literaturbekannten *caged* ADPR-Verbindung **34** sind, einen deutlichen Nachteil gegenüber der im Rahmen dieser Arbeit neu synthetisierten *caged* ADPR-Derivate **69** und **71** in Bezug auf ihre Stabilität im wässrigen Medium aufweisen.

Es konnte für die Heptylester **179** und **180** und den Heptanoylestern **181** in PBS-Puffer ebenfalls eine hohe Stabilität ermittelt werden. Während eine enzymatische Spaltung der

Estergruppen für die Heptylester **179** und **180** nicht beobachtet werden konnte, konnte dies nach mehreren Stunden Inkubationszeit in geringen Anteilen für das Heptanoylderivat **181** festgestellt werden. Trotz einer langsamen Spaltung der Ester ist durch die hohe chemische Stabilität und die erhöhte Lipophilie der Edukte ein Einsatz in Zellen möglich. Da bisher nur Modellexperimente in HEK-Zellextrakten durchgeführt wurden, ist ein auftretender „lock-in“-Effekt bei zellulären Anwendungen nicht auszuschließen. Eine Kombination einer bioreversiblen Maske und der Photogruppe könnte einen vielversprechenden Ansatz darstellen, um einen schnelleren „lock-in“-Effekt zu ermöglichen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten mehrere bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Verbindungen sowie demaskierte Referenzverbindungen hergestellt werden. Das neue photolabile Maskierungskonzept am anomeren Zentrum der terminalen Ribose von ADPR erhöht im Vergleich zu literaturbekanntem *caged* ADPR deutlich die Stabilität der Verbindungen. Die erfolgreiche Synthese eines bioreversibel-maskierten *caged* ADPR-Derivats ohne zusätzliche Schutzgruppen konnte aufzeigen, dass eine Maskierung des β -Phosphats deutlich die Stabilität der Verbindungen verringert. Daraufhin wurde eine neue Klasse von bioreversiblen *caged* ADPR-Verbindungen entwickelt, die lipophile Estergruppen enthalten, welche nach erfolgter Zellaufnahme gespalten werden könnten. Eine enzymatische Spaltung der Ester konnte in HEK-Zellextrakten nur für das Heptanoyl-Derivat **181** beobachtet werden, was eine Spaltung der Ester in der Zelle jedoch nicht vollständig ausschließt. Die neu synthetisierten bioreversiblen ADPR-Verbindungen weisen sehr hohe Stabilitäten in PBS-Puffer und sehr schnelle Photolysegeschwindigkeiten zur direkten Freisetzung des Agonisten ADPR auf. Neben der Optimierung der Esterspaltgeschwindigkeit wäre ein Einsatz dieser Verbindungen in zellulären Anwendungen zur Ermittlung der idealen Alkylkettenlänge zur optimalen passiven Aufnahme in Zellen zur abschließenden Optimierung dieser neu entwickelten Maskierungskonzepte ratsam.

7 Experimenteller Teil

7.1 Verwendete Geräte und Chemikalien

7.1.1 Lösungsmittel

Der folgenden Auflistung können die verwendeten Lösungsmittel entnommen werden. Für Reaktionen unter Sauerstoff- und Feuchtigkeitsausschluss wurden die entsprechend absoluten Lösungsmittel verwendet. Weitere nicht aufgeführte Lösungsmittel wurden ohne weitere Reinigung, wie vom Hersteller bezogen, eingesetzt.

Aceton	C_3H_6O [58.08 g/mol]; Sdp.: 56 °C; $\rho = 0.79 \text{ g/cm}^3$ 1.) technische Qualität 2.) absolut: Acros Organics™ (99.8%, extra dry, $\leq 0.005\%$ Wasser, über Molsieb (3 Å))
Acetonitril	C_3H_6O [41.05 g/mol]; Sdp.: 82 °C; $\rho = 0.79 \text{ g/cm}^3$ 1.) absolut: Honeywell ($\geq 99.9\%$, CHROMASOLV™, gradient grade, for HPLC), mit Lösungsmittel-Trocknungsanlage MBraun SPS-800 getrocknet, Lagerung über Molsieb (4 Å) und unter Stickstoff-Atmosphäre
Dichlormethan	CH_2Cl_2 [84.93 g/mol]; Sdp.: 40 °C; $\rho = 1.33 \text{ g/cm}^3$ 1.) technische Qualität, bei Normaldruck destilliert 2.) absolut: Honeywell ($\geq 99.8\%$, CHROMASOLV™, for HPLC), mit Lösungsmittel-Trocknungsanlage MBraun SPS-800 getrocknet, Lagerung über Molsieb (4 Å) und unter Stickstoff-Atmosphäre
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	C_3H_7NO [73.10 g/mol]; Sdp.: 153 °C; $\rho = 0.95 \text{ g/cm}^3$ 1.) absolut: Acros Organics™ (99.8%, extra dry, $\leq 0.005\%$ Wasser, über Molsieb (3 Å))
Essigsäureethylester	$C_4H_8O_2$ [88.11 g/mol]; Sdp.: 77 °C; $\rho = 0.90 \text{ g/cm}^3$ 1.) technische Qualität, bei Normaldruck destilliert
Methanol	CH_4O [32.04 g/mol]; Sdp.: 64 °C; $\rho = 0.79 \text{ g/cm}^3$ 1.) technische Qualität, bei Normaldruck destilliert 2.) absolut: Acros Organics™ (99.8%, extra dry, $\leq 0.005\%$ Wasser, über Molsieb)
Petrolether (50 - 70 °C)	1.) technische Qualität, bei Normaldruck destilliert

Pyridin	C_5H_5N [79.10 g/mol]; Sdp.: 115 °C; $\rho = 0.98 \text{ g/cm}^3$ 1.) absolut: Honeywell ($\geq 99.5\%$, Puriss. p.a., ACS reagent), mit Lösungsmittel-Trocknungsanlage MBraun SPS-800 getrocknet, Lagerung über Molsieb (4 Å) und unter Stickstoff-Atmosphäre
Tetrahydrofuran	C_4H_8O [72.11 g/mol]; Sdp.: 66 °C; $\rho = 0.89 \text{ g/cm}^3$ 1.) absolut: Honeywell ($\geq 99.9\%$, CHROMASOLV™ Plus, for HPLC, inhibitor free), mit Lösungsmittel-Trocknungsanlage MBraun SPS-800 getrocknet, Lagerung über Molsieb (4 Å) und unter Stickstoff-Atmosphäre
Toluol	C_7H_8 [92.14 g/mol]; Sdp.: 111 °C; $\rho = 0.87 \text{ g/cm}^3$ 1.) absolut: Acros Organics™ (99.8%, extra dry, $\leq 0.005\%$ Wasser, über Molsieb)

7.1.2 Chemikalien

Die Ausgangsverbindungen und Reagenzien wurden in Reinheiten $\geq 95\%$ vom Hersteller bezogen und, sofern nicht anders angegeben, ohne weitere Reinigung oder Trocknung eingesetzt. Die Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, Acros Organics, Alfa Aesar, Carbosynth, Fluka, Fluorochem, Grüssing, Merck, Sigma Aldrich, TCI oder VWR bezogen. In folgender Auflistung können Chemikalien entnommen werden, welche vor der Verwendung gereinigt wurden.

Triethylamin	Zwei Tage über Calciumhydrid (CaH_2) zum Rückfluss erhitzt, Lagerung über Molsieb (4 Å) und unter Stickstoff-Atmosphäre und Lichtausschluss
--------------	---

7.1.3 Pufferlösungen

Phosphatpuffer (PB)	5.5 g Dinatriumhydrogenphosphat und 1.6 g Kaliumhydrogenphosphat in 1 L Reinstwasser lösen und gewünschten pH-Wert mit verdünnter Natronlauge bzw. verdünnter Phosphorsäure einstellen.
Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (1 M, TEAB)	139.6 mL Triethylamin mit dest. Wasser auf 1.0 L auffüllen und Kohlenstoffdioxid einleiten, bis pH = 7 vorliegt.

Bu ₄ N ⁺ /AcO ⁻ -Laufpuffer für HPLC (2 mM)	12.7 mL Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung (10% in Wasser) mit 2.4 L Reinstwasser mischen und mit Essigsäure (1 M) bis pH = 6.0 (ca. 6 mL) versetzen.
Triethylammonium-acetat-Puffer (2 M)	3.7 mL Triethylamin und 3.2 mL konz. Essigsäure mischen und mit dest. Wasser auf 25 mL auffüllen. Der pH-Wert wurde mit Triethylamin oder konz. Essigsäure auf pH = 7 eingestellt.

7.1.4 Chromatographiematerialien

Dünnschichtchromatographie

Es wurden mit Kieselgel (+ Fluoreszenzindikator) beschichtete Aluminiumfolien (Macherey-Nagel ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄ Nr. 818333; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Laufstrecke betrug 5-6 cm. Alle *R_f*-Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Verbindungen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm. Als Färbereagenz diente ein Vanillin-Färbereagenz, bestehend aus 5 g Vanillin, 900 mL Methanol, 100 mL Essigsäure und 35 mL konz. Schwefelsäure.

Säulenchromatographie

Für säulenchromatographische Trennungen wurde Kieselgel 60 der Firma Macherey-Nagel (0.040-0.063, 70-230 mesh ASTM) verwendet.

Die Umkehrphasenchromatographie erfolgte automatisiert an RP-18 Säulen. Es wurden dafür Chromabond® Flash RS 40 C₁₈ ec und Chromabond® Flash RS 16 C₁₈ ec Säulen der Firma Macherey-Nagel verwendet.

Hochleistungsflüssigchromatographie

Für die HPLC-Analysen der Photolysen, Hydrolysen und der Kombinationsexperimente wurden die analytische Säulen EC 125/3 Nucleodur 100-5 C18 ec der Firma Macherey-Nagel verwendet.

7.1.5 Geräte

Hochleistungsflüssigchromatographie-System

HPLC-Analysen wurden an einer Agilent 1260 Infinity II durchgeführt. Es wurden die Komponenten Vialsampler G7129A, Quat Pump G7111A, G7116A MCT, G7117C DAD HS verwendet. Die Detektion der Signale erfolgte bei 254 nm.

Für Hydrolyse-/Photolyse-Experimente wurde folgende Methode verwendet:

0-25 min 5% CH₃CN/ 95% Bu₄N⁺-Laufpuffer (pH 6.0) → 100% CH₃CN; Flow: 1 mL/min

HPLC-gekoppelte Massenspektrometrie

LC-MS-Analysen wurden an einem Bruker maXis ESI-Q-TOF, gekoppelt an einer Dionex Ultimate 3000 UPLC, durchgeführt. Als analytische Säule wurde eine Atlantis™ Premier BEH C18 AX VanGuard Fit Säule (2.1 x 150 mm, 2.5 µm) verwendet.

Für die LC-MS-Analyse wurde folgende LC-Methode verwendet:

0-2 min	isokratisch, 2% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc)
2-10 min	2% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc) → 30% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc)
10-12 min	30% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc) → 80% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc)
12-15 min	isokratisch, 80% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc)
15-16 min	80% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc) → 2% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc)
16-20 min	isokratisch, 2% CH ₃ CN (10 mM NH ₄ OAc)/ 98% H ₂ O (10 mM NH ₄ OAc)

Massenspektrometrie

Die Massenspektren wurden in der massenspektrometrischen Abteilung des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg aufgenommen.

Die (HR-)ESI-Massenspektren wurden mit einem Agilent Technologies ESI-TOF 6224 Spektrometer gemessen.

Infrarotspektroskopie

Die IR-Spektren wurden an einem Bruker ALPHA Platinum ATR-IR-Spektrometer bei Raumtemperatur in einem Messbereich von 400 - 4000 cm⁻¹ aufgenommen.

Gefriertrocknungsanlage

Die Lyophilisierung von wässrigen Lösungen erfolgte an einer ALPHA 2-4 LD_{plus} Gefriertrocknungsanlage.

Lösungsmittelrocknungsanlage

Die Herstellung von absoluten Lösungsmitteln erfolgte an einem MBraun MB-SPS 800 Solvent Purification System.

Automatisierte (Umkehrphasen-)Säulenchromatographie

Die automatisierte säulenchromatographische Trennung wurde an einem modularem Sepacore® Flash System der Firma BÜCHI durchgeführt. Folgende Module wurden verwendet:

BÜCHI Control Unit C-620, BÜCHI Fraction Collector C-660, BÜCHI UV Photometer C-640, BÜCHI Pumpen C-601.

Kernspinresonanzspektroskopie

Die NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg aufgenommen.

¹H-NMR: Bruker Avance 400 MHz, Bruker DRX 500 MHz, Bruker Avance III HD 600 MHz. Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl₃ (δ = 7.26 ppm), CD₃CN (δ = 1.94 ppm), CD₃OD (δ = 3.31 ppm), D₂O (δ = 4.79 ppm), oder DMSO-*d*₆ (δ = 2.50 ppm). Die Aufnahmen erfolgten über einen Messbereich von 0 bis 14 ppm.

¹³C-NMR: Bruker AV 3600 (150 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl₃ (δ = 77.16 ppm), CD₃CN (δ = 1.32 ppm), CD₃OD (δ = 49.00 ppm) oder DMSO-*d*₆ (δ = 39.52 ppm). Die Aufnahmen erfolgten über einen Messbereich von 0 bis 200 ppm.

³¹P-NMR: Bruker Avance I 400 MHz mit einem 5 mm BBO-Probenkopf mit ATM und z-Gradient, Bruker Avance III HD 600 MHz mit einem 5 mm BBO-Probenkopf mit ATM und z-Gradient (162 MHz). Es erfolgte keine Standardisierung. Die Aufnahmen erfolgten über einen Messbereich von -100 bis 200 ppm.

¹⁹F-NMR: Bruker Avance III HD 600 MHz mit einem 5 mm BBO-Probenkopf mit ATM und z-Gradient (565 MHz). Es erfolgte keine Standardisierung. Die Aufnahmen erfolgten über einen Messbereich von -200 bis 200 ppm.

Photolyselampen

365 nm-UV-LED: bezogen von Sahlmann Photochemical Solutions, drei 1.3 W UV-LED (NVSU233A-U365) trigonal auf passiven Kühlkörper fixiert.

405 nm-UV-LED: bezogen von Sahlmann Photochemical Solutions, drei 1.4 W UV-LED (NVSU233A-405) trigonal auf passiven Kühlkörper fixiert.

7.1.6 Standardverfahrensanweisungen

Photolysen

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in DMSO diene als Stammlösung. Für die Photolyse empfiehlt sich für die Reaktionslösung ein Volumen von ca. 500 μ L mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM. Dafür wurden zuerst 406 μ L Phosphatpuffer (pH 7.4), 85.3 μ L Dimethylsulfoxid und 9.1 μ L der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diene als Nullprobe. Die Lösung wurde in ein transparentes Glas-Vial überführt und dieses direkt vor die UV-Lampe platziert. Unter ständigem Rühren erfolgte die Bestrahlung der Probenlösung mit der entsprechenden UV-Lampe. Die Bestrahlung wurde nach definierten

Zeitabständen unterbrochen, ein Aliquot (35 μ L) für die HPLC-Analyse (Injektionsvolumen: 30 μ L) entnommen und die Photolyse anschließend fortgesetzt.

HPLC-Verfolgung der Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsexperimente

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diene als Stammlösung. Für die Kombination aus Hydrolyse und Photolyse empfiehlt sich für die Reaktionslösung ein Volumen von ca. 1 mL mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM. Dafür wurden zuerst 755 μ L Phosphatpuffer (pH 7.4), 170.6 μ L Dimethylsulfoxid und 18.1 μ L der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diene als Nullprobe. Nach Zugabe von 56.6 μ L PLE-Stammlösung (100 U/mL) wurde die Reaktionslösung bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (35 μ L) für die HPLC-Analyse (Injektionsvolumen: 30 μ L) entnommen.

Nach abgeschlossenem Hydrolyse-Experiment wurde die restliche Reaktionslösung in ein transparentes Glas-Vial überführt und dieses vor die UV-Lampe platziert. Unter ständigem Rühren erfolgte die Bestrahlung der Probenlösung mit der entsprechenden UV-Lampe. Die Bestrahlung wurde nach definierten Zeitabständen unterbrochen, ein Aliquot (35 μ L) für die HPLC-Analyse (Injektionsvolumen: 30 μ L) entnommen und die Photolyse anschließend fortgesetzt.

HPLC-Verfolgung der Hydrolysestabilität in PBS-Puffer

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diene als Stammlösung. Zur Vergleichbarkeit mit der enzymatischen Hydrolyse empfiehlt sich eine Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM. Dafür wurden zuerst 812 μ L Phosphatpuffer (pH 7.4), 170.6 μ L Dimethylsulfoxid und 18.1 μ L der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diene als Nullprobe. Anschließend wurde die Reaktionslösung bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (40 μ L) für die HPLC-Analyse (Injektionsvolumen: 30 μ L.) entnommen.

LC-MS-Verfolgung der PLE- und PBS-Hydrolyseexperimente

Enzymatische Hydrolyse mit PLE

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diene als Stammlösung. Für die Kombination aus Hydrolyse und Photolyse empfiehlt sich für die Reaktionslösung ein Volumen von ca. 1 mL mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM. Dafür wurden zuerst 755 μ L Phosphatpuffer (pH 7.4), 170.6 μ L Dimethylsulfoxid und 18.1 μ L der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diene als Nullprobe. Nach Zugabe von 56.6 μ L PLE-Stammlösung (100 U/mL) wurde die Reaktionslösung bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (40 μ L) für die LC-MS-Analyse entnommen.

Nach abgeschlossenem Hydrolyse-Experiment wurde die restliche Reaktionslösung in ein transparentes Glas-Vial überführt und dieses vor die UV-Lampe platziert. Unter ständigem Rühren erfolgte die Bestrahlung der Probenlösung mit der entsprechenden UV-Lampe. Die Bestrahlung wurde nach definierten Zeitabständen unterbrochen, ein Aliquot (40 µL) für die LC-MS-Analyse entnommen und die Photolyse anschließend fortgesetzt.

Chemische Hydrolyse in PBS-Puffer

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diente als Stammlösung. Zur Vergleichbarkeit mit der enzymatischen Hydrolyse empfiehlt sich eine Analyt-Konzentration von ca. 6 mM. Dafür wurden zuerst 812 µL Phosphatpuffer (pH 7.4), 170.6 µL Dimethylsulfoxid und 18.1 µL der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diente als Nullprobe. Anschließend wurde die Reaktionslösung bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (40 µL) für die LC-MS-Analyse entnommen.

Probenvorbereitung für LC-MS-Analyse

Es wurden 15 µL aus dem jeweiligen Aliquot entnommen und mit 15 µL Methanol (*LC-MS-grade*) verdünnt, geschüttelt und zentrifugiert. Es wurden 20 µL vom Überstand entnommen, mit 80 µL Wasser (*LC-MS-grade*) verdünnt und die erhaltene Lösung bis zur Messung (Injektionsvolumen: 10 µL) tiefgefroren.

HPLC- und LC-MS-Verfolgung der CEM/0-Hydrolyse

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diente als Stammlösung. Für die Kombination aus Hydrolyse und Photolyse empfiehlt sich für die Reaktionslösung ein Volumen von ca. 1.4 mL mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.85 mM. Dafür wurden zuerst 214.3 µL Wasser, 51.4 µL der Analyt-Stammlösung und 1071.4 µL CEM/0-Extrakt gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diente als Nullprobe. Die Reaktionslösung wurde bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (60 µL) entnommen. Die Aliquote wurden jeweils mit 60 µL Methanol (*LC-MS-grade*) verdünnt und fünf Minuten auf Eis gelagert. Die entstandene Suspension wurde zentrifugiert, 80 µL des Überstandes wurden abgenommen und mit 720 µL Wasser (*LC-MS-grade*) verdünnt. Es wurden jeweils 100 µL dieser Lösung für die HPLC- (Injektionsvolumen: 50 µL) und LC-MS-Analyse (Injektionsvolumen: 10 µL) entnommen.

HPLC- und LC-MS-Verfolgung der PBS-Hydrolyse

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diente als Stammlösung. Für die Kombination aus Hydrolyse und Photolyse empfiehlt sich für die Reaktionslösung ein Volumen von ca. 500 µL mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM. Dafür wurden zuerst 406 µL Wasser, 85.3 µL Dimethylsulfoxid und 9.1 µL der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diente als Nullprobe. Die Reaktionslösung

wurde bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (40 µL) entnommen. Die Aliquote wurden jeweils mit 40 µL Methanol (*LC-MS-grade*) verdünnt und fünf Minuten auf Eis gelagert. Die Lösung wurde zentrifugiert, 40 µL des Überstandes wurden für die HPLC-Analyse (Injektionsvolumen: 35 µL) sowie weitere 20 µL für die LC-MS Analyse entnommen. Die LC-MS-Probe wurde mit 180 µL Wasser (*LC-MS-grade*) verdünnt. Es wurden 50 µL dieser Lösung für die LC-MS-Analyse (Injektionsvolumen: 10 µL) entnommen.

HPLC- und LC-MS-Verfolgung der HEK293-Hydrolyse

Eine 25 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in Dimethylsulfoxid diente als Stammlösung. Für die Kombination aus Hydrolyse und Photolyse empfiehlt sich für die Reaktionslösung ein Volumen von ca. 750 µL mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.85 mM. Dafür wurden zuerst 188.6 µL Wasser, 25.7 µL der Analyt-Stammlösung und 535.7 µL HEK293-Extrakt gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diente als Nullprobe. Die Reaktionslösung wurde bei 37 °C inkubiert und nach definierten Zeitabständen Aliquote (40 µL) entnommen. Die Aliquote wurden jeweils mit 40 µL Methanol (*LC-MS-grade*) verdünnt und fünf Minuten auf Eis gelagert. Die Lösung wurde zentrifugiert, 40 µL des Überstandes wurden für die HPLC-Analyse (Injektionsvolumen: 35 µL) sowie weitere 20 µL für die LC-MS-Analyse abgenommen. Die LC-MS-Probe wurde mit 180 µL Wasser (*LC-MS-grade*) verdünnt. Es wurden 50 µL dieser Lösung für die LC-MS-Analyse (Injektionsvolumen: 10 µL) entnommen.

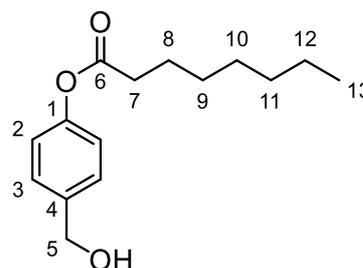
7.2 Synthesen

7.2.1 Synthese der bioreversiblen Maske und der photolabilen Schutzgruppen

Darstellung von 4-(Hydroxymethyl)phenyloctanoat **47**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-Hydroxybenzylalkohol **49** (2.445 g, 19.70 mmol) sowie katalytische Mengen 4-(Dimethylamino)pyridin in 40 mL abs. Tetrahydrofuran gegeben, mit 1.0 Äquiv. Triethylamin (2.8 mL, 20 mmol) versetzt und auf 0°C gekühlt. Zur gekühlten Lösung wurde langsam eine Lösung aus 0.8 Äquiv. Octanoylchlorid (2.7 mL, 16 mmol) in 10 mL abs. Tetrahydrofuran getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung für zwei Stunden bei 0 °C gerührt und anschließend filtriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der erhaltene Rückstand in Dichlormethan gelöst. Die organische Phase wurde jeweils mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 3:1 v/v).

Ausbeute: 68% (2.724 g, 10.88 mmol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.



47

Summenformel: C₁₅H₂₂O₃

Molare Masse: 250.3380 g/mol

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.30.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.39 – 7.36 (m, 2H, H-3), 7.08 – 7.05 (m, 2H, H-2), 4.68 (s, 2H, H-5), 2.55 (t, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 2H, H-7), 1.75 (p, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, H-8), 1.43 – 1.27 (m, 8H, H-9, H-10, H-11, H-12), 0.90 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 3H, H-13).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 172.6 (C-6), 150.3 (C-1), 138.5 (C-4), 128.2 (C-3), 121.8 (C-2), 64.9 (C-5), 34.5 (C-7), 25.1 (C-8), 31.8, 29.2, 29.1, 22.7 (C-9, C-10, C-11, C-12), 14.2 (C-13).

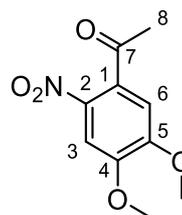
IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3185, 2921, 2852, 1759, 1633, 1508, 1466, 720.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 251.1642 [M+H]⁺, gef.: 251.1636 [M+H]⁺.

Darstellung von 4,5-Dimethoxy-2-nitroacetophenon **57**

Es wurden 1.0 Äquiv. 3,4-Dimethoxyacetophenon **58** (1.11 g, 6.18 mmol) in 5 mL Essigsäureanhydrid gelöst und diese Lösung zu einer auf 0 °C gekühlten Mischung aus 10 mL Salpetersäure (65%) mit 0.5 Vol-% Essigsäureanhydrid getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in Eiswasser gegeben. Der entstandene Feststoff wurde filtriert und durch abschließende Umkristallisation in einem Wasser/Ethanol-Gemisch (H₂O/C₂H₅OH 1:0.5 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 54% (0.75 g, 3.3 mmol) an feinen gelblichen Kristallen.



57

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1): 0.47.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.61 (s, 1H, H-3), 6.76 (s, 1H, H-6), 3.98 (s, 6H, -OCH₃), 2.50 (s, 3H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 200.2 (C-7), 154.1 (C-5), 149.7 (C-4), 138.6 (C-2), 133.0 (C-1), 108.7 (C-6), 107.0 (C-3), 56.8 (OCH₃), 56.7 (OCH₃), 30.5 (C-8).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3065, 2976, 2934, 2843, 1697, 1574, 1509, 1461, 1439, 1324, 1279, 1223, 1181, 1113, 1043, 1021, 986, 953, 881, 854, 836, 788, 759, 681, 666, 599, 536.

MS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 226.0710 [M+H]⁺, gef.: 226.070 [M+H]⁺.

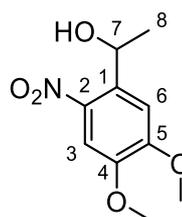
Darstellung von 1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethanol **55**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitroacetophenon **57** (695 mg, 3.09 mmol) in 33 mL abs. Methanol gelöst und bei Raumtemperatur unter Rühren portionsweise 1.6 Äquiv. Natriumborhydrid (186 mg, 4.92 mmol) hinzugegeben. Nach vollständigem Reaktionsumsatz wurde die Reaktionslösung eingeeengt und mit Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit dest. Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 87% (609 mg, 2.68 mmol) an feinen gelblichen Kristallen.

Summenformel: C₁₀H₁₃NO₅

Molare Masse: 227.2160 g/mol



55

DC: R_f-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.48.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-3), 7.30 (s, 1H, H-6), 5.57 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-7), 4.00 (s, 3H, 5-OCH₃), 3.94 (s, 3H, 4-OCH₃), 1.55 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.9 (C-5), 147.8 (C-4), 139.8 (C-2), 137.0 (C-1), 108.6 (C-6), 107.5 (C-3), 65.9 (C-7), 56.6 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 24.4 (C-8).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3284, 2991, 2966, 2929, 2841, 1614, 1580, 1523, 1500, 1467, 1439, 1394, 1364, 1325, 1265, 1220, 1190, 1165, 1093, 1054, 1038, 1020, 970, 898, 868, 846, 797, 759, 722, 695, 659, 593, 558, 474.

MS: (ESI⁺, m/z): ber.: 210.0766 [M-OH]⁺, gef.: 210.075 [M-OH]⁺.

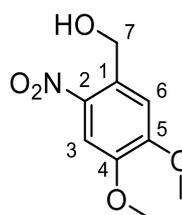
Darstellung von 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylalkohol **54**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzaldehyd **55** (1.926 g, 9.120 mmol) in 40 mL abs. Methanol gelöst und bei Raumtemperatur unter Rühren portionsweise 1.4 Äquiv. Natriumborhydrid (490 mg, 13.0 mmol) hinzugegeben. Nach vollständigem Reaktionsumsatz wurde die Reaktionslösung eingeeengt und mit Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 97% (1.881 g, 8.825 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₉H₁₁NO₅

Molare Masse: 213.1890 g/mol



55

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.71 (s, 1H, H-3), 7.17 (s, 1H, H-6), 4.96 (s, 2H, H-7), 4.01 (s, 3H, 5-OCH₃), 3.96 (s, 3H, 4-OCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 154.0 (C-5), 148.1 (C-4), 139.9 (C-2), 132.4 (C-1), 111.2 (C-6), 108.3 (C-3), 63.0 (C-7), 56.6 (5-OCH₃), 56.5 (4-OCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3545, 2939, 2848, 1614, 1580, 1518, 1464, 1436, 1358, 1320, 1269, 1218, 1192, 1158, 1067, 1030, 982, 872, 795, 756, 598.

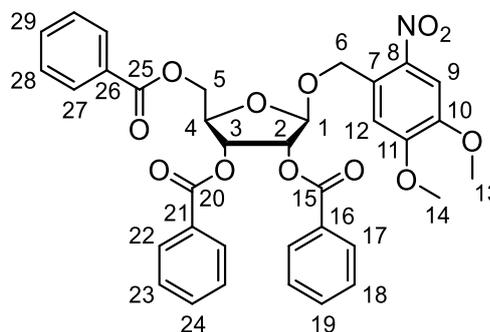
MS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 196.061 [M-OH]⁺, gef.: 196.063 [M-OH]⁺.

7.2.2 Synthese des acetylierten *caged* Ribose-Bausteins

Darstellung von 1'-(4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-2',3',5'-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **60**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **49** (306 mg, 607 μ mol) und 1.4 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylalkohol **54** (174 mg, 816 μ mol) in 8 mL abs. Dichlormethan gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte unter Rühren und Kühlung die Zugabe von 0.2 Äquiv. Zinn(IV)chlorid (1 M in Dichlormethan, 0.1 mL, 0.1 mmol). Der Reaktionsansatz wurde für zwei Stunden bei 0 °C und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz erfolgte die Zugabe von 5 mL ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden jeweils einmal mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 3:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 99% (395 mg, 601 μ mol) eines gelblichen, amorphen Feststoffes. Das Produkt wurde als reines β -Anomer isoliert.



60

Summenformel: C₃₅H₃₁NO₁₂

Molare Masse: 657.6280 g/mol

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.49.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 8.02 – 7.97 (m, 4H, H-17, H-27), 7.94 – 7.91 (m, 2H, H-22), 7.68 (s, 3H, H-9), 7.60 – 7.56 (m, 1H, H-19), 7.55 – 7.51 (m, 1H, H-24), 7.49 – 7.44 (m, 1H, H-29), 7.44 – 7.40 (m, 2H, H-18), 7.38 – 7.33 (m, 2H, H-23), 7.30 – 7.25 (m, 2H, H-28), 7.23 (s, 3H, H-12), 5.92 (dd, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-3), 5.84 (d, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-2), 5.41 (bs, 1H, H-1), 5.20 (d, ²J_{H,H} = 16 Hz, 1H, H-6_a), 5.03 (d, ²J_{H,H} = 15.7 Hz, 1H, H-6_b), 4.83 – 4.75 (m, 2H, H-4, H-5_a), 4.54 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-5_b), 4.01 (s, 3H, H-14), 3.95 (s, 3H, H-13).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 166.2 (C-25), 165.6 (C-20), 165.5 (C-15), 154.0 (C-11), 147.8 (C-10), 139.3 (C-8), 133.7 (C-19), 133.6 (C-24), 133.2 (C-29), 129.9 (C-17), 129.8 (C-22), 129.7 (C-27), 129.6 (C-26), 129.5 (C-7), 129.2 (C-16), 129.0 (C-21), 128.7 (C-18), 128.6 (C-23), 128.4 (C-28), 109.5 (C-12), 108.1 (C-9), 105.4 (C-1), 79.5 (C-4), 75.7 (C-2), 72.4 (C-3), 66.9 (C-6), 64.4 (C-5), 56.6 (C-14), 56.5 (C-13).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960, 1723, 1520, 1451, 1324, 1261, 1220, 1176, 1098, 1068, 1025, 873, 796, 709.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 680.1738 [M+Na]⁺, gef.: 680.1710 [M+Na]⁺.

Darstellung von 1'-(4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)- β -D-ribofuranosid **47**

Synthese 1:

Es wurden 1.0 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl-2',3',5'-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **60** (0.252 mg, 383 μ mol) in 0.6 mL Tetrahydrofuran gelöst, 5 mL methanolische Ammoniak-Lösung zugegeben (7 M, 0.04 mol) und der Reaktionsansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Bis zum vollständigen Umsatz wurden wiederholt 2 mL der Ammoniak-Lösung zugegeben und weitere 24 Stunden gerührt. Vollständiger Umsatz konnte nach der Zugabe von insgesamt 9 mL methanolischer Ammoniak-Lösung (7 M, 0.06 mol) beobachtet werden. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 90% (119 mg, 0.345 μ mol) eines gelblichen Harzes.

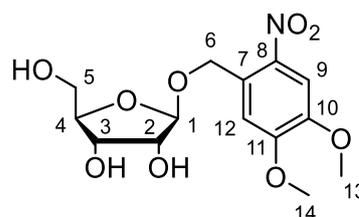
Synthese 2:

Es wurden 1.01 g (1.54 mmol, 1.0 Äquiv.) 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl-2',3',5'-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **60** vorgelegt und in einer Lösung aus 1.10 g (20.3 mmol, 13.3 Äquiv.) Natriummethanolat und 40 mL Methanol suspendiert. Nach 23 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde die Suspension mit Dowex® 50WX8 neutralisiert. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 84% (445 mg, 1.29 mmol) eines gelben amorphen Feststoffes.

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_9$

Molare Masse: 645.6040 g/mol



47

DC: R_f -Wert ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v): 0.17.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3 , 300 K): 7.66 (s, 1H, H-9), 7.26 (s, 1H, H-12), 5.12 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 4.6$ Hz, 1H, 2-OH), 4.98 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.8$ Hz, 1H, H-6_a), 4.88 (bs, 1H, H-1), 4.85 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.8$ Hz, 1H, 3-OH), 4.78 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.8$ Hz, 1H, H-6_b), 4.65 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 5.7$ Hz, 5-OH), 3.95 (ddd, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.8$ Hz, 1H, H-3), 3.90 (s, 3H, H-14), 3.88 – 3.86 (m, 1H, H-2), 3.86 (s, 3H, H-13), 3.80 (dt, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.7$ Hz, 1H, H-4), 3.55 (ddd, $^2J_{\text{H,H}} = 11.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, 1H, H-5_a), 3.37 (ddd, $^2J_{\text{H,H}} = 11.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, 1H, H-5_b).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.2 (C-11), 147.4 (C-10), 139.2 (C-8), 129.4 (C-7), 110.5 (C-12), 107.9 (C-9), 106.8 (C-1), 83.8 (C-4), 74.4 (C-2), 70.7 (C-3), 65.4 (C-6), 62.7 (C-5), 56.1 (C-14), 56.0 (C-13).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3357, 2922, 2851, 1521, 1465.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 368.0952 [M+Na]⁺, gef.: 368.0961 [M+Na]⁺.

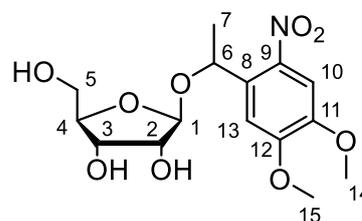
Darstellung von 1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl- β -D-ribofuranosid **48**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **49** (6.162 g, 12.21 mmol) und 1.4 Äquiv. 1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethanol **55** (3.936 g, 17.33 mmol) in 160 mL abs. Dichlormethan gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0.2 Äquiv. Zinn(IV)chlorid-Lösung (2 M in Dichlormethan, 2 mL, 2 mmol). Die Lösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und nach vollständigen Umsatz nach zwei Stunden aufgearbeitet. Dazu wurden 100 mL ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie an Kieselgel (PE/EE 2:1) vorgereinigt, der daraus erhaltene Rückstand zu einer Suspension aus Natriummethanolat in Methanol (3.2 g in 120 mL) gegeben und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde durch Zugabe von Dowex® 50WX8 neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Produkts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v).

Ausbeute: 69% (3.008 g, 8.371 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₁₅H₂₁NO₉

Molare Masse: 359.3310 g/mol



48

DC: R_f -Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.45.

Diastereomer 1:

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10), 7.18 (s, 1H, H-13), 5.32 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6), 5.01 (d, ³*J*_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, 2-OH), 4.82 – 4.79 (m, 1H, 3-OH), 4.71 (t, ³*J*_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, 5-OH), 4.43 – 4.41 (m, 1H, H-1), 3.92 (s, 3H, H-14), 3.92 – 3.89 (m, 1H, H-3), 3.86 (s, 3H, H-15), 3.79 (ddd, ³*J*_{H,H} = 4.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-2), 3.75 – 3.71 (m, 1H, H-4), 3.54 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.41 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, 1H, H-5_b), 1.43 (d, ³*J*_{H,H} = Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 153.4 (C-12), 147.6 (C-11), 140.3 (C-9), 133.7 (C-8), 109.1 (C-13), 107.5 (C-10), 104.5 (C-1), 84.0 (C-4), 74.3 (C-2), 70.9 (C-3), 68.9 (C-6), 63.1 (C-5), 56.1 (C-14), 56.1 (C-15), 23.4 (C-7).

Diastereomer 2:

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-10), 7.23 (s, 1H, H-13), 5.28 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6), 5.06 (d, ³*J*_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, 2-OH), 4.88 (bs, 1H, H-1), 4.82 – 4.79 (m, 1H, 3-OH), 4.43 – 4.41 (m, 1H, 5-OH), 3.90 (s, 3H, H-15), 3.85 (s, 3H, H-14), 3.84 – 3.81 (m, 2H, H-2, H-3), 3.68 – 3.66 (m, 1H, H-4), 3.32 – 3.30 (m, 1H, H-5_a), 3.07 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, 1H, H-5_b), 1.41 (d, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-7).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 153.0 (C-12), 147.2 (C-11), 138.9 (C-9), 135.1 (C-8), 109.8 (C-13), 107.3 (C-10), 106.3 (C-1), 83.7 (C-4), 74.7 (C-2), 71.1 (C-3), 70.5 (C-6), 62.8 (C-5), 56.0 (C-14), 56.0 (C-15), 22.7 (C-7).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3378, 2934, 1972, 1705, 1614, 1580, 1515, 1454, 1370, 1331, 1269, 1217, 1169, 1084, 1012, 952, 876, 852, 794, 758, 735, 715, 651, 620, 593, 538, 455, 426, 397, 381.

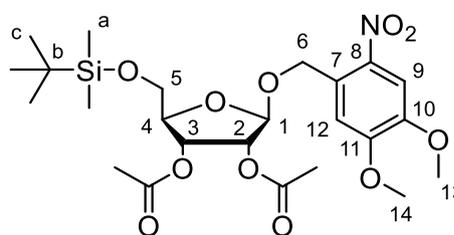
HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 382.1109 [M+Na]⁺, gef.: 382.1100 [M+Na]⁺.

Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-*O*,*O*-diacetyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)- β -D-ribofuranosid **62**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl- β -D-ribofuranosid **47** (502 mg, 1.45 mmol) in 2 mL Pyridin gelöst, mit 1.3 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (285 mg, 1.89 mmol) versetzt und der Ansatz für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 4.5 Äquiv. Essigsäureanhydrid (6 mL, 6 mmol) zugegeben und weitere 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert und abschließend in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v) gereinigt.

Summenformel: C₂₄H₃₇NO₁₁Si

Molare Masse: 543.6410 g/mol



62

Ausbeute: 81% (643 mg, 1.18 mmol) eines gelben Harzes.

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.50.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.72 (s, 1H, H-9), 7.25 (s, 1H, H-12), 5.44 – 5.43 (m, 1H, H-3), 5.41 (dd, ³*J*_{H,H} = 5.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-2), 5.17 (d, ²*J*_{H,H} = 16.0 Hz, 1H, H-6_a), 5.14 (d, ³*J*_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-1), 4.97 (d, ²*J*_{H,H} = 16.0 Hz, 1H, H-6_b), 4.23 – 4.21 (m, 1H, H-4), 4.02 (s, 3H, H-14), 3.95 (s, 3H, H-13), 3.76 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, H-5_a), 3.73 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-5_a), 2.11 (s, 3H, 2-OAc), 2.07 (s, 3H, 3-OAc), 0.85 (s, 9H, H-c), 0.03 (s, 3H, H-a), 0.01 (s, 3H, H-a').

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 170.0 (3-C=O), 169.9 (2-C=O), 154.0 (C-11), 147.8 (C-10), 139.2 (C-8), 130.1 (C-7), 109.4 (C-12), 108.1 (C-9), 104.9 (C-1), 81.7 (C-4), 75.1 (C-2), 71.9 (C-3), 66.6 (C-6), 63.9 (C-5), 25.9 (C-c), 20.8 (2-OCOCH₃), 20.7 (3-OCOCH₃), 18.4 (C-b), -5.3 (C-a), -5.4 (C-a').

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3195, 2922, 2851, 1750, 1467, 1377, 721.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 580.2185 [M+Na]⁺, gef.: 580.2189 [M+Na]⁺.

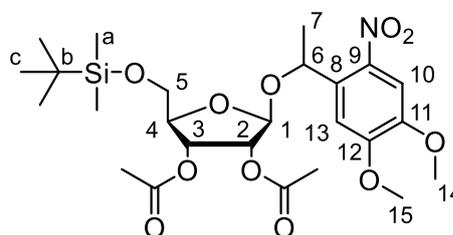
Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*,*O*-acetyl-1'-((4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **63**

Es wurden 1.0 Äquiv. (507 mg, 1.41 mmol) 1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl- β -D-ribofuranosid **48** in 10 mL abs. Pyridin gelöst, 1.4 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (304 mg, 2.02 mmol) zugegeben und der Ansatz für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es erfolgte die Zugabe von 4.6 Äquiv. Essigsäureanhydrid (6.0 mL, 6.5 mmol) und der Ansatz wurde für weitere 18 Stunden gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 85% (672 mg, 1.21 mmol) eines grünlichen Sirups als Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1:1.

Summenformel: C₂₅H₃₉NO₁₁Si

Molare Masse: 557.6680 g/mol



63

DC: *R_f*-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.45.

Diastereomer 1:

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10), 7.16 (s, 1H, H-13), 5.57 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6), 5.34 (dd, ³*J*_{H,H} = 6.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-3), 5.31 – 5.26 (m, 1H, H-2), 4.70 (d, ³*J*_{H,H} = 0.8 Hz, 1H, H-1), 4.18 (q, ³*J*_{H,H} = 5.7 Hz, 1H, H-4), 4.06 (s, 3H, H-15), 3.94 (s, 3H, H-14), 3.82 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-5_a), 3.74 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, H-5_b), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7), 0.92 (s, 9H, H-c), 0.11 (s, 3H, H-a), 0.11 (s, 3H, H-a').

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 169.9 (C=O), 169.8 (C=O), 154.1 (C-12), 148.0 (C-11), 140.5 (C-9), 134.4 (C-8), 109.5 (C-13), 107.5 (C-10), 102.8 (C-1), 81.5 (C-4), 75.2 (C-2), 72.6 (C-3), 70.1 (C-6), 64.8 (C-5), 56.6 (C-15), 56.5 (C-14), 26.0 (C-c), 22.7 (C-7), 20.7 (OCOCH₃), 20.7 (OCOCH₃), 18.5 (C-b), -5.3 (C-a), -5.3 (C-a').

Diastereomer 2:

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10), 7.24 (s, 1H, H-13), 5.52 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6), 5.31 – 5.26 (m, 2H, H-2, H-3), 5.12 (bs, 1H, H-1), 4.06 – 4.03 (m, 1H, H-4), 4.00 (s, 3H, H-15), 3.94 (s, 3H, H-14), 3.54 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-5_a), 3.40 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, H-5_b), 2.10 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7), 0.81 (s, 9H, H-c), -0.05 (s, 3H, H-a), -0.08 (s, 3H, H-a').

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 170.1 (C=O), 169.9 (C=O), 153.8 (C-12), 147.8 (C-11), 139.4 (C-9), 135.4 (C-8), 108.7 (C-13), 107.8 (C-10), 103.8 (C-1), 81.2 (C-4), 75.2 (C-2), 72.2 (C-3), 71.5 (C-6), 64.2 (C-5), 56.6 (C-15), 56.5 (C-14), 25.8 (C-c), 23.9 (C-7), 20.8 (OCOCH₃), 20.8 (OCOCH₃), 18.3 (C-b), -5.5 (C-a), -5.6 (C-a').

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3195, 2922, 2851, 1750, 1467, 1377, 721.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 580.2185 [M+Na]⁺, gef.: 580.2189 [M+Na]⁺.

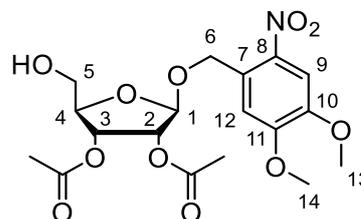
Darstellung von 2',3'-Di-O,O-acetyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)- β -D-ribofuranosid 45

Es wurden 1.0 Äquiv. 5'-O-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-O,O-diacetyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)- β -D-ribofuranosid **62** (635 mg, 1.17 mmol) in 20 mL Acetonitril gelöst und mit 3.2 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 0.6 mL, 3.68 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Umsatz gerührt. Überschüssiges Fluorid-Reagenz wurde anschließend durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:2 v/v).

Ausbeute: 96% (482 mg, 1.12 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₈H₂₃NO₁₁

Molare Masse: 429.3780 g/mol



45

DC: R_f -Wert (PE/EE 1:2 v/v): 0.47.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, CDCl_3 , 300 K): 7.71 (s, 1H, H-9), 7.21 (s, 1H, H-12), 5.46 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.1$ Hz, 1H, H-3), 5.40 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 0.5$ Hz, 1H, H-2), 5.19 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 15.4$ Hz, 1H, H-6_a), 5.17 (bs, 1H, H-1), 5.01 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 15.4$ Hz, 1H, H-6_b), 4.29 (ddd, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.5$ Hz, 1H, H-4), 4.02 (s, 3H, H-14), 3.95 (s, 3H, H-13), 3.85 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.2$ Hz, 1H, H-5_a), 3.67 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.9$ Hz, 1H, H-5_b), 2.12 (s, 3H, 2-OAc), 2.09 (s, 3H, 3-OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, CDCl_3 , 300 K): 170.3 (3- $\text{OC}=\text{O}$), 169.9 (2- $\text{OC}=\text{O}$), 154.1 (C-11), 148.0 (C-10), 139.4 (C-8), 129.2 (C-7), 109.7 (C-12), 108.2 (C-9), 105.3 (C-1), 82.3 (C-4), 75.4 (C-2), 70.9 (C-3), 67.2 (C-6), 62.6 (C-5), 56.7 (C-14), 56.5 (C-13), 20.8 (2- OCOCH_3), 20.7 (3- OCOCH_3).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3360, 2922, 2852, 1748, 1467, 1376, 1329, 722.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 452.1163 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺, gef.: 452.1158 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺.

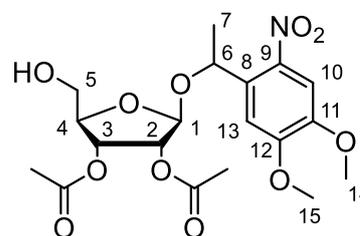
Darstellung von 2,3-Di-O,O-acetyl-1-((4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **46**

Es wurden 1.0 Äquiv. (669 mg, 1.20 mmol) 5'-O-*tert*-Butyldimethylsilyl-2,3-di-O,O-acetyl-1-((4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **63** in 20 mL Acetonitril gelöst und mit 2.7 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 3.0 mL, 3.2 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Umsatz gerührt. Überschüssiges Fluorid-Reagenz wurde anschließend durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:2 v/v).

Ausbeute: 99% (529 mg, 1.19 mmol) eines gelb-grünlichen Harzes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$

Molare Masse: 443.4050 g/mol



46

DC: R_f -Wert (PE/EE 1:2 v/v): 0.51, 0.40.

Diastereomer 1:

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, CDCl_3 , 300 K): 7.59 (s, 1H, H-10), 7.16 (s, 1H, H-13), 5.60 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 1H, H-6), 5.41 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.3$ Hz, 1H, H-3), 5.28 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.2$ Hz, 1H, H-2), 4.74 (bs, 1H, H-1), 4.26 (ddd, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.2$ Hz, 1H, H-4), 4.04 (s, 3H, H-15), 3.94 (s, 3H, H-14), 3.87 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.2$ Hz, 1H, H-5_a), 3.70 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.0$ Hz, 1H, H-5_b), 2.07 (s, 3H, 3-OAc), 2.01 (s, 3H, 2-OAc), 1.53 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 3H, H-7).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, CDCl_3 , 300 K): 170.3 (3-C=O), 169.9 (2-C=O), 153.9 (C-12), 148.1 (C-11), 140.4 (C-9), 133.9 (C-8), 108.7 (C-13), 107.8 (C-10), 103.3 (C-1), 82.4 (C-4), 75.5 (C-2), 71.2 (C-3), 70.8 (C-6), 62.8 (C-5), 56.6 (C-15), 56.5 (C-14), 24.0 (C-7), 20.7 (3-OCOCH₃), 20.7 (2-OCOCH₃).

Diastereomer 2:

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, CDCl_3 , 300 K): 7.56 (s, 1H, H-10), 7.18 (s, 1H, H-13), 5.54 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 1H, H-6), 5.36 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 6.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.0$ Hz, 1H, H-3), 5.32 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 5.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 0.7$ Hz, 1H, H-2), 5.14 (bs, 1H, H-1), 4.14 – 4.12 (m, 1H, H-4), 4.00 (s, 3H, H-15), 3.93 (s, 3H, H-14), 3.63 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.1$ Hz, 1H, H-5_a), 3.42 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.7$ Hz, 1H, H-5_b), 2.12 (s, 3H, 3-OAc), 2.06 (s, 3H, 2-OAc), 1.52 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, 3H, H-7).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, CDCl_3 , 300 K): 170.2 (3-OC=O), 169.7 (2-OC=O), 154.2 (C-12), 148.2 (C-11), 139.5 (C-9), 134.6 (C-8), 109.1 (C-13), 107.6 (C-10), 104.6 (C-1), 81.9 (C-4), 75.6 (C-2), 72.3 (C-3), 70.5 (C-6), 62.1 (C-5), 56.7 (C-15), 56.5 (C-14), 23.0 (C-7), 20.8 (3-OCOCH₃), 20.7 (2-OCOCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3362, 2923, 2851, 1749, 1582, 1467, 1376, 1336, 1275, 1046, 722.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 466.1325 [M+Na]⁺, gef.: 466.1321 [M+Na]⁺.

7.2.3 Synthese der acetylierten OB-maskierten caged ADPR-Derivate

Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-acetyl-1''-O-β-NV-P_β-(4-octanoyloxybenzyl)adenosindiphosphat-ribose 36

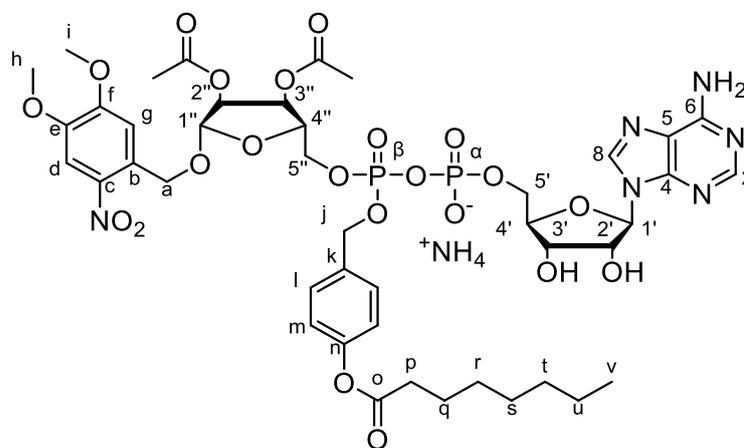
Es wurden 1.0 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamino)-*O*-(4-octanoyloxybenzyl)phosphoramidit **44** (123 mg, 256 μmol) und 0.9 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-acetyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-β-D-ribofuranosid **45** (103 mg, 240 μmol) vorgelegt und in 10 mL abs. Acetonitril gelöst. Es erfolgte unter Rühren bei Raumtemperatur die Zugabe von 1.0 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (48 mg, 0.25 mmol). Der Ansatz wurde für 30 Minuten gerührt und das Lösungsmittel entfernt. Zu dem Rückstand wurden 1.2 Äquiv. Triethylammonium-Adenosinmonophosphat (1.0 Äquiv. Et₃NH⁺, 132 mg, 294 μmol) gegeben, der Ansatz in 12 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und weitere 1.2 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (58 mg, 0.30 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde für eine Stunde bei 30 °C erwärmt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 2.7 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in *n*-Decan, 0.07 mL, 0.7 mmol) und es wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 14% (37 mg, 34 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₄₃H₅₉N₇O₂₂P₂

Molare Masse: 1087.9195 g/mol



36

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 8.48 (brs, 2H, H-8, 2 ds), 8.18 (brs, 2H, H-2, 2 ds), 7.63 (s, 2H, H-d, 2 ds), 7.28 (s, 2H, H-g, 2 ds), 7.40 – 7.36 (m, 4H, H-l, 2 ds), 7.16 (brs, NH_2 , 1 ds), 7.08 (brs, NH_4^+ , 2 ds), 7.05 – 7.00 (m, 4H, H-m, 2 ds), 6.99 (brs, NH_2 , 1 ds), 5.92 – 5.91 (m, 2H, H-1', 2 ds), 5.26 – 5.23 (m, 2H, H-3'', 2 ds), 5.23 – 5.21 (m, 2H, H-2'', 2 ds), 5.16 – 5.14 (m, 2H, H-1'', 2 ds), 5.03 – 4.99 (m, 4H, H-j, 2 ds), 4.99 – 4.96 (m, 2H, H- a_a , 2 ds), 4.89 – 4.86 (m, 2H, H- a_b , 2 ds), 4.60 – 4.56 (m, 2H, H-2', 2 ds), 4.32 – 4.28 (m, 2H, H-4'', 2 ds), 4.26 – 4.20 (m, 2H, H-5'' $_a$, 2 ds), 4.19 – 4.17 (m, 2H, H-3', 2 ds), 4.15 – 4.10 (m, 2H, H-5'' $_b$, 2 ds), 4.05 – 4.03 (m, 2H, H-4', 2 ds), 4.00 – 3.92 (m, 4H, H-5', 2 ds), 3.89, 3.88, 3.84 (s, 12 H, H-i, H-h, 2 ds), 2.57 – 2.54 (m, 2H, H-p, 1 ds), 2.07, 2.01, 1.99 (s, 12H, OAc, 2 ds), 1.65 – 1.59 (m, 4H, H-q, 2 ds), 1.38 – 1.22 (m, 16H, H-r, H-s, H-t, H-u, 2 ds), 0.87 (m, 6H, H-v, 2 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 172.1 (C-o), 170.0, 169.9 ($\text{C}=\text{OCH}_3$), 153.5 (C-f), 151.6 (C-2), 150.5 (C-n), 148.1 (C-e), 139.9 (C-8), 139.8 (C-c), 134.5 (C-k), 129.3 (C-l), 128.4 (C-b), 122.1 (C-m), 111.9 (C-g), 108.6 (C-d), 104.9 (C-1''), 87.3 (C-1'), 84.4 (C-4'), 79.6 (C-4''), 74.3 (C-2'), 74.2 (C-2''), 71.4 (C-3'), 71.2 (C-3''), 67.9 (C-j), 67.6 (C-5''), 66.5 (C-a), 66.0 (C-5'), 56.6, 56.4 (C-i, C-h), 33.9 (C-p), 31.5, 29.0, 22.5 (C-r, C-s, C-t, C-u), 24.8 (C-q), 20.9 (COCH_3), 20.8 (COCH_3), 14.5 (C-v).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): -11.5 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.4$ Hz, P_α , 2 ds), -12.0 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.3$ Hz, P_β , 1 ds), -12.2 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.5$ Hz, P_β , 1 ds).

HRMS: (ESI $^+$, m/z): ber.: 1071.2996 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 1071.3014 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-acetyl-1''-O-β-NV-Pβ-(4-octanoyloxybenzyl)-2'-desoxy-adenosindiphosphat-ribose **38**

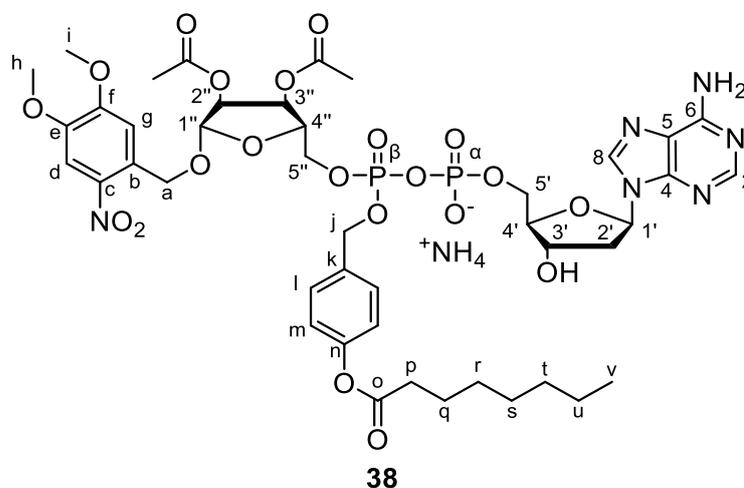
Es wurden 1.3 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamino)-*O*-(4-octanoyloxybenzyl)phosphoramidit **44** (320 mg, 666 μmol) und 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-acetyl-1'-NV-β-D-ribofuranosid **45** (225 mg, 524 μmol) vorgelegt und in 20 mL abs. Acetonitril gelöst. Es erfolgte unter Rühren bei Raumtemperatur die Zugabe von 1.2 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (118 mg, 611 μmol). Der Ansatz wurde für 30 Minuten gerührt und das Lösungsmittel entfernt. Zu dem Rückstand wurden 1.2 Äquiv. Triethylammonium-2'-Desoxyadenosinmonophosphat (1.4 Äquiv. Et₃NH⁺, 334 mg, 683 μmol) gegeben, der Ansatz in 20 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und weitere 1.2 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (118 mg, 611 μmol) zugegeben. Die Lösung wurde für zehn Minuten bei 30 °C erwärmt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 1.7 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 mL in *n*-Decan, 0.16 mL, 0.88 mmol) und es wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 15% (83 mg, 77 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₄₃H₅₉N₇O₂₁P₂

Molare Masse: 1071.9205 g/mol



Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): 8.51 (s, 2H, H-8, 2 ds), 8.22 (s, 1H, H-2, 1 ds), 8.22 (s, 1H, H-2, 1 ds), 7.62 (s, 1H, H-d, 1 ds), 7.62 (s, 1H, H-d, 1 ds), 7.39 – 7.36 (m, 4H, H-l, 2 ds), 7.26 (s, 1H, H-g, 1 ds), 7.26 (s, 1H, H-g, 1 ds), 7.17 (brs, NH_4^+ , 1 ds), 7.09 (brs, NH_4^+ , 1 ds), 7.04 – 7.00 (m, 4H, H-m, 2 ds), 6.38 – 6.35 (m, 2H, H-1', 2 ds), 5.26 – 5.23 (m, 2H, H-3'', 2 ds), 5.23 – 5.21 (m, 2H, H-2'', 2 ds), 5.16 – 5.14 (m, 2H, H-1'', 2 ds), 5.03 – 5.00 (m, 4H, H-j, 2 ds), 4.99 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.1$ Hz, 1H, H-a, 1 ds), 4.97 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.2$ Hz, 1H, H-a, 1 ds), 4.87 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.1$ Hz, 1H, H-a, 1 ds), 4.87 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.1$ Hz, 1H, H-a, 1 ds), 4.46 – 4.43 (m, 2H, H-3'', 2 ds), 4.33 – 4.28 (m, 2H, H-4'', 2 ds), 4.26 – 4.21 (m, 2H, H-5'', 2 ds), 4.15 – 4.10 (m, 2H, H-5'', 2 ds), 4.01 – 3.97 (m, 2H, H-4', 2 ds), 3.97 – 3.91 (m, 4H, H-5', 2 ds), 3.88 (s, 6H, H-h, 2 ds), 3.84 (s, 6H, H-l, 2 ds), 2.70 – 2.64 (m, 2H, H-2', 2 ds), 2.57 – 2.53 (m, 4H, H-p, 2 ds), 2.30 – 2.25 (m, 2H, H-2', 2 ds), 2.07 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.07 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.00 (s, 3H, OAc, 1 ds), 1.99 (s, 3H, OAc, 1 ds), 1.65 – 1.59 (m, 4H, H-q, 2 ds), 1.37 – 1.23 (m, 16H, H-r, H-s, H-t, H-u, 2 ds), 0.88 – 0.85 (m, 4H, H-v, 2 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): 171.7 (C-o, 2 ds), 169.4 (C=OCH_3 , 2 ds), 154.1 (C-6, 2 ds), 153.2 (C-f, 2 ds), 150.2 (C-2, 1 ds), 150.1 (C-2, 1 ds), 150.1 (C-n, 2 ds), 148.8 (C-4, 2 ds), 147.6 (C-e, 2 ds), 139.4 (C-8, 2 ds), 139.4 (C-e, 2 ds), 133.9 (C-k, 2 ds), 128.8 (C-l, 1 ds), 128.8 (C-l, 1 ds), 128.0 (C-b, 2 ds), 121.6 (C-m, 1 ds), 121.6 (C-m, 1 ds), 118.7 (C-5, 2 ds), 111.1 (C-g, 2 ds), 108.1 (C-d, 1 ds), 108.0 (C-d, 1 ds), 104.6 (C-1'', 2 ds), 86.2 (C-4', 2 ds), 83.0 (C-1', 2 ds), 79.0 (C-4'', 2 ds), 73.9 (C-2'', 2 ds), 71.2 (C-3', 2 ds), 70.9 (C-3'', 2 ds), 67.6 (C-j, 2 ds), 67.0 (C-5'', 2 ds), 66.1 (C-a, 2 ds), 65.6 (C-5', 2 ds), 56.2 (C-h, 2 ds), 56.0 (C-i, 2 ds), 39.9 (C-2', 2 ds), 33.4 (C-p, 2 ds), 31.1, 28.3, 22.0 (C-r, C-s, C-t, C-u), 24.3 (C-q, 2 ds), 20.4 (COCH_3 , 1 ds), 20.4 (COCH_3 , 1 ds), 20.3 (COCH_3 , 1 ds), 20.3 (COCH_3 , 1 ds), 13.9 (C-v).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): -11.5 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.8$ Hz, P_α , 2 ds), -12.0 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.5$ Hz, P_β , 1 ds), -12.2 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.8$ Hz, P_β , 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 1055.3047 [M+H]⁺, gef.: 1055.3023 [M+H]⁺.

Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-acetyl-1''-O-β-MeNV-P_β-(4-octanoyloxybenzyl)-adenosindiphosphat-ribose 37

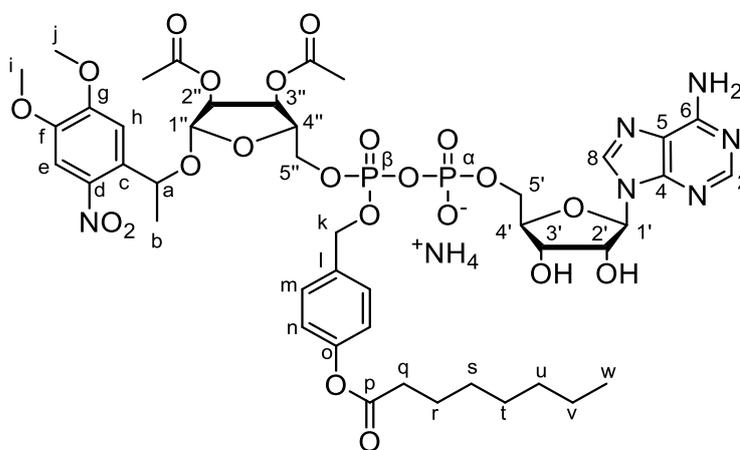
Es wurden 1.0 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamino)-*O*-(4-octanoyloxybenzyl)phosphoramidit **44** (199 mg, 414 μmol) und 1.0 Äquiv. 2,3-Di-O,*O*-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)-β-D-ribofuranosid **46** (189 mg, 426 μmol) vorgelegt und in 16 mL abs. Acetonitril gelöst. Es erfolgte unter Rühren bei Raumtemperatur die Zugabe von 1.0 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (83 mg, 0.43 mmol). Der Ansatz wurde für 30 Minuten gerührt und das Lösungsmittel entfernt. Zu dem Rückstand wurden 1.2 Äquiv. Triethylammonium-Adenosinmonophosphat (1.0 Äquiv. Et₃NH⁺, 227 mg, 506 μmol) gegeben, der Ansatz in 12 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und weitere 1.2 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (98 mg, 0.51 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde für eine Stunde bei 30 °C erwärmt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 2.9 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in *n*-Decan, 0.12 mL, 1.2 mmol) und es wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 21% (95 mg, 86 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren.

Summenformel: C₄₄H₆₁N₇O₂₂P₂

Molare Masse: 1101.9465 g/mol



37

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 8.50 – 8.45 (m, H-8, 4 ds), 8.19 – 8.15 (m, H-2, 4 ds), 7.59 – 7.33 (m, H-m, H-e, 4 ds), 7.25 – 7.00 (m, H-n, H-h, 4 ds), 5.94 – 5.92 (m, H-1', 4 ds), 5.41 – 5.33 (m, H-a, 4 ds), 5.26 – 5.21 (m, H-3'', 2 ds), 5.20 – 5.12 (m, H-2'', 4 ds, H-1'', 2 ds, H-3'', 2 ds), 5.12 – 5.05 (m, H-k, 2 ds), 4.99 – 4.94 (m, H-k, 2 ds), 4.72 (s, H-1'', 2 ds), 4.62 – 4.56 (m, H-2', 4 ds), 4.30 – 4.10 (m, H-3', H-4'', 4 ds), 4.10 – 3.95 (m, H-4', H-5', H-5'', 4 ds), 3.93, 3.93, 3.88, 3.87, 3.85, 3.80, 3.79 (s, H-i, H-j, 4 ds), 2.59 – 2.54 (m, H-q, 4 ds), 2.06 – 1.97 (m, OAc, 4 ds), 1.67 – 1.59 (m, H-r, 4 ds), 1.47 – 1.40 (m, H-b, 4 ds), 1.39 – 1.26 (m, H-s, H-t, H-u, H-v, 4 ds), 0.88 – 0.85 (m, H-w, 4 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 171.7 (C-p), 169.7, 169.7, 169.7, 169.6, 169.5, 169.4, 169.4 (COCH_3), 155.4 (C-6), 153.5, 153.2 (C-g), 151.7 (C-2), 150.2, 150.2 (C-o), 149.6 (C-4), 147.6, 147.5, 147.4 (C-f), 140.1, 139.2 (C-d), 139.6 (C-8), 134.0, 133.9 (C-l), 133.8, 132.8 (C-c), 121.7, 121.6 (C-m), 128.9, 128.9 (C-n), 118.8 (C-5), 109.7, 108.8 (C-e), 107.6, 107.5 (C-h), 104.0, 102.4 (C-1''), 86.7 (C-1'), 83.9 (C-4'), 78.9, 78.9 (C-4''), 74.0, 73.9 (C-2''), 72.0, 69.6 (C-a), 71.0, 70.9 (C-3''), 67.6 (C-k), 67.0, 65.4 (C-5', C-5''), 56.2, 56.0, 55.9 (C-i, C-j), 33.4 (C-q), 24.3 (C-r), 23.2 (C-b), 22.0, 28.3, 31.1 (C-s, C-t, C-u, C-v), 20.4, 20.4, 20.3, 20.3, 20.3, 20.3, 20.2, 20.2 (COCH_3), 13.9 (C-w).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): -11.5 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.1$ Hz, P_α , 2 ds), -11.6 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.0$ Hz, P_α , 2 ds), -11.9 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.2$ Hz, P_β , 1 ds), -12.0 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.6$ Hz, P_β , 1 ds), -12.1 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.3$ Hz, P_β , 1 ds), -12.3 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.7$ Hz, P_β , 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 1085.3152 [M+H]⁺, gef.: 1085.3171 [M+H]⁺.

Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-acetyl-1''-O- β -MeNV- P_{β} -(4-octanoyloxybenzyl)-2'-desoxyadenosindiphosphat-ribose **39**

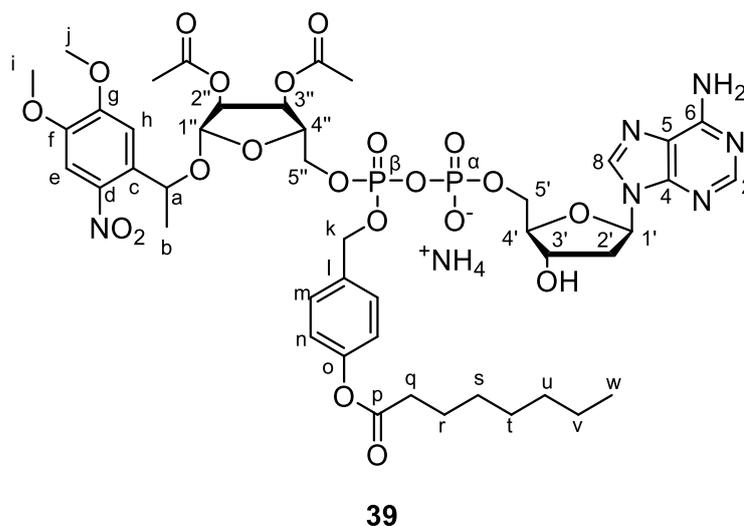
Es wurden 1.3 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamino)-*O*-(4-octanoyloxybenzyl)phosphoramidit **44** (320 mg, 666 μ mol) und 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **46** (228 mg, 514 μ mol) vorgelegt und in 20 mL *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Es erfolgte unter Rühren bei Raumtemperatur die Zugabe von 1.2 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (120 mg, 621 μ mol). Der Ansatz wurde für 15 Minuten bei 30 °C gerührt. Zu dem Rückstand wurden 1.5 Äquiv. Triethylammonium-2'-Desoxyadenosinmonophosphat (1.4 Äquiv. Et_3NH^+ , 400 mg, 818 μ mol) sowie weitere 1.5 Äquiv. des Aktivators Pyridiniumtrifluoracetat (147 mg, 761 μ mol) gegeben. Die Lösung wurde für 70 Minuten bei 30 °C erwärmt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 1.9 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in *n*-Decan, 0.18 mL, 0.99 mmol) und es wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H_2O \rightarrow 100% CH_3CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H_2O \rightarrow 100% CH_3CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 20% (109 mg, 100 μ mol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren.

Summenformel: $\text{C}_{44}\text{H}_{61}\text{N}_7\text{O}_{21}\text{P}_2$

Molare Masse: 1085.9475 g/mol



Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): 8.51 (s, H-8, 1 ds), 8.50 (s, H-8, 1 ds), 8.49 (s, H-8, 1 ds), 8.48 (s, H-8, 1 ds), 8.21 (s, H-2, 4 ds), 7.57 (s, H-e, 1 ds), 7.56 (s, H-e, 1 ds), 7.51 (s, H-e, 1 ds), 7.50 (s, H-e, 1 ds), 7.49 – 7.44 (m, H-m, 2 ds), 7.40 – 7.36 (m, H-m, 2 ds), 7.24 – 7.22 (m, H-h, 2 ds), 7.19 (brs, NH_4^+), 7.17 – 7.15 (m, H-h, 2 ds), 7.12 – 7.01 (m, NH_4^+ , H-n, 4 ds), 6.40 – 6.35 (m, H-1', 4, ds), 5.40 – 5.34 (m, H-a, 4 ds), 5.25 – 5.22 (m, H-3'', 2 ds), 5.19 – 5.13 (m, H-1'', 2 ds, H-2'', 4 ds, H-3'', 2 ds), 5.12 – 5.08 (m, H-ka, 4 ds), 5.00 – 4.94 (m, H-kb, 4 ds), 4.72 (s, H-1'', 2 ds), 4.48 – 4.42 (m, H-3', 4 ds), 4.30 – 3.90 (m, H-4'', 4 ds, H-4', 4 ds, H-5', 4 ds, H-5'', 4 ds), 3.93, 3.93, 3.87, 3.87, 3.85, 3.80, 3.79 (s, H-i, H-j, 4 ds), 2.72 – 2.64 (m, H-2'a, 4 ds), 2.58 – 2.53 (m, H-q, 4 ds), 2.32 – 2.25 (m, H-2'b, 4 ds), 2.05 (s, Ac, 1 ds), 2.04 (s, Ac, 1 ds), 1.99 (s, Ac, 1 ds), 1.98 – 1.97 (s, Ac, 4 ds), 1.97 (s, Ac, 1 ds), 1.66 – 1.59 (m, H-r, 4 ds), 1.46 – 1.40 (m, H-b, 4 ds), 1.37 – 1.32 (m, H-s, H-t, H-u, H-v, 4 ds), 0.88 – 0.84 (m, H-w, 4 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): 171.7 (C-p), 169.7, 169.5, 169.4 (COCH_3), 154.6 (C-6), 153.6, 153.2 (C-g), 150.3 (C-o), 150.2 (C-2), 148.9 (C-4), 147.8, 147.6 (C-f), 139.9 (C-8), 139.2, 140.2 (C-d), 133.8, 132.9 (C-c), 128.9, 128.8 (C-m, C-l), 121.7, 121.7, 121.6 (C-n), 118.7 (C-5), 109.4, 108.6 (C-h), 107.6, 107.5 (C-e), 104.0, 102.2 (C-1''), 83.3 (C-1'), 78.9, 78.6 (C-4''), 86.0 (C-4'), 73.9 (C-2''), 71.8, 69.5 (C-a), 70.9 (C-3''), 67.5 (C-k), 67.0 (C-5''), 65.6 (C-5'), 56.2, 56.0, 55.9 (C-i, C-j), 39.6 (C-2'), 33.5 (C-q), 31.2, 28.3, 22.0 (C-s, C-t, C-u, C-v), 24.3 (C-r), 23.1 (C-b), 20.4, 20.3, 20.2 (COCH_3).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): -11.4 – -11.6 (m, P_α , 4 ds), -11.8 – -12.0 (m, P_β , 2 ds), -12.1 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.5$ Hz, P_β , 1 ds), -12.3 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.6$ Hz, P_β , 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 1069.3203 [M+H]⁺, gef.: 1069.3209 [M+H]⁺.

7.2.4 Synthese von MeNV-ADPR und -dADPR

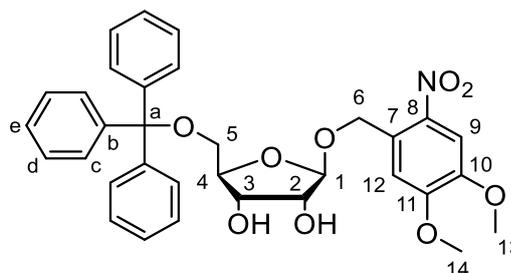
Darstellung von 1'-(4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-O-triphenylmethyl- β -D-ribofuranosid **83**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl- β -D-ribofuranosid **45** (675 mg, 1.95 mmol), 1.5 Äquiv. Triphenylmethylchlorid (827 mg, 2.97 mmol) und 0.3 Äquiv. 4-(Dimethylamino)pyridin (69 mg, 0.56 mmol) in 10 mL abs. Pyridin gelöst und unter Rühren bis zum vollständigen Umsatz bei 95 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert und in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1 \rightarrow EE v/v).

Ausbeute: 68% (777 mg, 1.32 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₃₃H₃₃NO₉

Molare Masse: 587.6250 g/mol



83

DC: R_f -Wert (EE): 0.76.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.69 (s, 1H, H-9), 7.44 – 7.41 (m, 6H, H-c), 7.25 – 7.21 (m, 6H, H-d), 7.21 – 7.17 (m, 3H, H-e), 7.04 (s, 1H, H-12), 5.15 (bs, 1H, H-1), 5.12 (d, ² $J_{H,H}$ = 15.0 Hz, 1H, H-6_a), 4.96 (d, ² $J_{H,H}$ = 15.0 Hz, 1H, H-6_b), 4.41 – 4.37 (m, 1H, H-3), 4.26 – 4.23 (m, 1H, H-2), 4.16 – 4.12 (m, 1H, H-4), 3.95 (s, 3H, H-13), 3.71 (s, 3H, H-14), 3.34 (dd, ² $J_{H,H}$ = 9.7 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.6 Hz, H-5_a), 3.26 (dd, ² $J_{H,H}$ = 9.6 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.7 Hz, 1H, H-5_b), 2.62 (d, ³ $J_{H,H}$ = 4.0 Hz, 1H, 2-OH), 2.32 (d, ³ $J_{H,H}$ = 6.1 Hz, 1H, 3-OH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.6 (C-11), 147.8 (C-10), 143.9 (C-b), 139.5 (C-8), 129.8 (C-7), 128.7 (C-c), 128.0 (C-d), 127.2 (C-e), 110.1 (C-12), 108.1 (C-9), 107.2 (C-1), 86.9 (C-a), 82.6 (C-4), 75.5 (C-2), 72.6 (C-3), 67.0 (C-6), 64.8 (C-5), 56.5 (C-13), 56.3 (C-14).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3416, 3060, 2926, 2868, 1581, 1520, 1492, 1462, 1448, 1396, 1327, 1275, 1220, 1162, 1099, 1067, 1032, 987, 952, 875, 795, 766, 747, 706.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 610.2048 [M+Na]⁺, gef.: 610.2060 [M+Na]⁺.

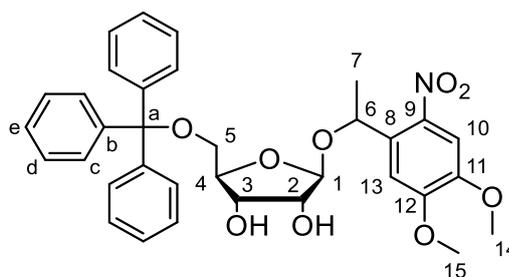
Darstellung von 1'-(1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **84**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1'-(1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **46** (731 mg, 2.03 mmol), 1.4 Äquiv. Triphenylmethylchlorid (799 mg, 2.87 mmol) und 0.3 Äquiv. 4-(Dimethylamino)pyridin (73 mg, 0.29 mmol) in 10 mL abs. Pyridin gelöst und unter Rühren für vier Stunden bis zum vollständigen Umsatz bei 95 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 80% (0.981 mg, 1.63 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₃₄H₃₅NO₉

Molare Masse: 601.6520 g/mol



84

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.63; 0.46.

Diastereomer 1:

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10), 7.52 – 7.48 (m, 3H, H-e), 7.37 – 7.31 (m, 6H, H-d), 7.28 – 7.19 (m, 6H, H-c), 7.12 (s, 1H, H-13), 5.57 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6), 4.72 (d, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1), 4.32 (q, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-3), 4.15 – 4.10 (m, 1H, H-2), 4.10 – 4.04 (m, 1H, H-4), 3.94 (s, 3H, H-14), 3.91 (s, 3H, H-15), 3.32 (dd, ²J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.29 (dd, ²J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-5_b), 2.50 (d, ³J_{H,H} = 4.2 Hz, 1H, OH), 2.26 (d, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, OH), 1.37 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 154.0 (C-12), 148.0 (C-11), 143.7 (C-b), 140.8 (C-9), 134.6 (C-8), 128.8 (C-e), 128.1 (C-d), 127.4 (C-c), 108.9 (C-10), 107.7 (C-13), 105.1 (C-1), 87.0 (C-a), 82.5 (C-4), 75.7 (C-2), 72.9 (C-3), 70.4 (C-6), 65.1 (C-5), 56.5 (C-14), 56.5 (C-15), 23.8 (C-7).

Diastereomer 2:

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.53 (s, 1H, H-10), 7.52 – 7.48 (m, 3H, H-e), 7.37 – 7.31 (m, 6H, H-d), 7.28 – 7.19 (m, 6H, H-c), 7.13 (s, 1H, H-13), 5.50 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6), 5.06 (d, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1), 4.25 (q, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-3), 4.19 – 4.15 (m, 1H, H-2), 4.00 – 3.94 (m, 1H, H-4), 3.92 (s, 3H, H-14), 3.70 (s, 3H, H-15), 3.19 (dd, ²J_{H,H} = 9.6 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-5_a), 3.09 (dd, ²J_{H,H} = 9.6 Hz, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-5_b), 2.60 (d, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, OH), 2.35 (d, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, OH), 1.48 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.9 (C-12), 147.7 (C-11), 143.9 (C-b), 139.2 (C-9), 135.8 (C-8), 128.7 (C-e), 128.1 (C-d), 127.3 (C-c), 108.8 (C-10), 107.7 (C-13), 105.7 (C-1), 87.0 (C-a), 81.7 (C-4), 75.9 (C-2), 73.3 (C-3), 71.5 (C-6), 64.9 (C-5), 56.5 (C-14), 56.3 (C-15), 23.0 (C-7).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3058, 2956, 2927, 2870, 1578, 1518, 1491, 1449, 1374, 1333, 1271, 1218, 1170, 1077, 1014, 955, 900, 877, 795, 763, 734, 700, 647, 632.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 624.2204 [M+Na]⁺, gef.: 624.2199 [M+Na]⁺.

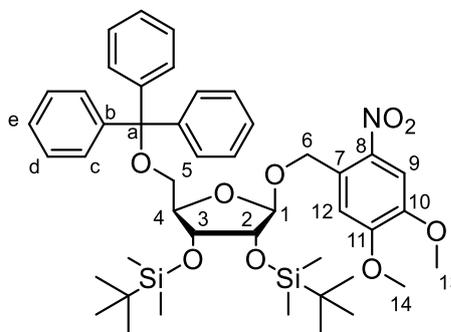
Darstellung von 2',3'-Di-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-O-triphenylmethyl- β -D-ribofuranosid **85**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl-5'-O-triphenylmethyl- β -D-ribofuranosid **83** (105 mg, 179 μ mol), 5.1 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (137 mg, 909 μ mol) und 5.2 Äquiv. Imidazol (63 mg, 0.93 mmol) in 0.5 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und der Ansatz für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 7:1 \rightarrow EE v/v).

Ausbeute: 81% (118 mg, 145 μ mol) eines gelben, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₄₅H₆₁NO₉Si₂

Molare Masse: 816.1510 g/mol



85

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 7:1 v/v): 0.30.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.70 (s, 1H, H-9), 7.49 – 7.47 (m, 6H, H-c), 7.23 – 7.17 (m, 9H, H-d, H-e), 7.01 (s, 3H, H-12), 5.19 (d, ²*J*_{H,H} = 14.7 Hz, 1H, H-6_a), 5.07 (d, ³*J*_{H,H} = 0.7 Hz, 1H, H-1), 5.06 (d, ²*J*_{H,H} = 14.6 Hz, 1H, H-6_b), 4.29 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3), 4.19 (ddd, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-4), 4.08 (dd, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-2), 3.95 (s, 3H, H-13), 3.58 (s, 3H, H-14), 3.40 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.01 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-5_b), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.74 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), -0.04 (s, 3H, SiCH₃), -0.20 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.5 (C-11), 147.8 (C-10), 144.1 (C-b), 139.8 (C-8), 129.9 (C-7), 128.9 (C-c), 127.8 (C-d), 127.1 (C-e), 110.5 (C-12), 108.2 (C-9), 107.4 (C-1), 86.5 (C-a), 82.0 (C-4), 76.4 (C-2), 72.3 (C-3), 67.2 (C-6), 64.2 (C-5), 56.5 (C-13), 56.1 (C-14), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -4.1 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3061, 3022, 2953, 2929, 2856, 1581, 1520, 1491, 1463, 1449, 1361, 1327, 1275, 1254, 1219, 1162, 1128, 1097, 1068, 1033, 1009, 954, 937, 871, 834, 795, 775, 737, 700, 672, 632.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 838.3777 [M+Na]⁺, gef.: 838.3768 [M+Na]⁺.

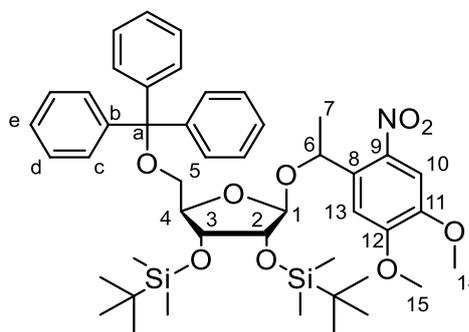
Darstellung von 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-5'-O-triphenylmethyl-β-D-ribofuranosid 86

Es wurden 1.0 Äquiv. 1'-(1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-5'-O-triphenylmethyl-β-D-ribofuranosid **84** (539 mg, 896 μmol), 4.6 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (620 mg, 4.11 mmol) und 5.7 Äquiv. Imidazol (345 mg, 5.07 mmol) in 5 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und der Ansatz für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 7:1 v/v).

Ausbeute: 85% (632 mg, 761 μmol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₄₆H₆₃NO₉Si₂

Molare Masse: 830.1780 g/mol



86

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 7:1 v/v): 0.50; 0.45.

Diastereomer 1:

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.62 (s, 1H, H-10), 7.57 – 7.54 (m, 6H, H-c), 7.37 – 7.31 (m, 6H, H-d), 7.24 – 7.18 (m, 4H, H-e, H-13), 5.78 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6), 4.59 (bs, 1H, H-1), 4.35 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3), 4.12 – 4.08 (m, 1H, H-4), 3.98 – 3.95 (m, 1H, H-2), 3.97 (s, 3H, H-14), 3.96 (s, 3H, H-15), 3.42 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-5_a), 3.01 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-5_b), 1.44 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7), 0.92 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.71 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.15 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.8 (C-12), 148.0 (C-11), 144.2 (C-b), 141.0 (C-9), 135.3 (C-8), 129.0 (C-c), 127.9 (C-d), 127.1 (C-e), 108.8 (C-13), 107.8 (C-10), 105.0 (C-1), 86.6 (C-a), 81.4 (C-4), 76.5 (C-2), 71.8 (C-3), 69.9 (C-6), 63.9 (C-5), 56.5 (C-15), 56.5 (C-14), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 23.9 (C-7), 18.3 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -3.9 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.6 (SiCH₃).

Diastereomer 2:

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.54 (s, 1H, H-10), 7.41 – 7.37 (m, 6H, H-c), 7.24 – 7.18 (m, 10H, H-d, H-e, H-13), 5.59 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6), 5.00 (d, ³J_{H,H} = 2.3 Hz, 1H, H-1), 4.12 – 4.08 (m, 1H, H-3), 4.04 – 4.01 (m, 2H, H-2, H-4), 3.91 (s, 3H, H-14), 3.64 (s, 3H, H-15), 3.25 (dd, ²J_{H,H} = 10.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-5_a), 2.92 (dd, ²J_{H,H} = 10.2 Hz, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_b), 1.52 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7), 0.78 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.77 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), -0.17 (s, 3H, SiCH₃), -0.19 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.6 (C-12), 147.6 (C-11), 144.0 (C-b), 139.2 (C-9), 136.2 (C-8), 128.8 (C-c), 127.8 (C-d), 127.0 (C-e), 109.5 (C-13), 107.7 (C-10), 106.2 (C-1), 86.5 (C-a), 82.3 (C-4), 76.5 (C-2), 72.5 (C-3), 71.7 (C-6), 64.1 (C-5), 56.4 (C-14), 56.2 (C-15), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (SiC(CH₃)₃), 23.2 (C-7), 18.1 (SiC(CH₃)₃), 18.0 (SiC(CH₃)₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2955, 2927, 2856, 1583, 1521, 1492, 1462, 1449, 1377, 1362, 1335, 1273, 1256, 1220, 1166, 1095, 1081, 1031, 959, 938, 899, 874, 836, 794, 777, 747, 705, 632.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 852.3934 [M+Na]⁺, gef.: 852.3956 [M+Na]⁺.

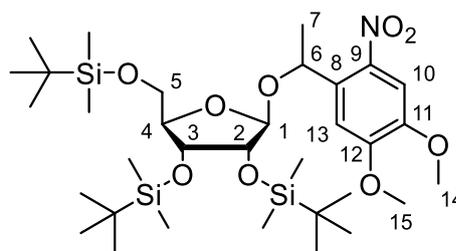
Darstellung von 2,3,5-O,O,O-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **87**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1'-(1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **46** (750 mg, 2.09 mmol), 6.4 Äquiv. Imidazol (907 mg, 13.3 mmol) und 5.3 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (1.666 g, 11.05 mmol) in 5 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Die Reaktionslösung wurde für sechs Stunden bei 90 °C und anschließend weitere 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit verdünnter Salzsäure (1 M), Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 66% (971 mg, 1.38 mmol) eines gelblichen Öls als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₃₃H₆₃NO₉Si₃

Molare Masse: 702.1200 g/mol



87

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.56.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.59 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.28 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.12 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.56 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.87 (d, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.53 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.18 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.07 (t, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.98 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.97 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.96 – 3.92 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.90 – 3.82 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5, 1 ds), 3.63 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.61 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.2 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.45 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 1.51 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.48 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.83 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 9H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.03 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.05 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.6 (C-12, 2 ds), 147.9 (C-11, 1 ds), 147.7 (C-11, 1 ds), 141.0 (C-9, 1 ds), 139.5 (C-9, 1 ds), 136.3 (C-8, 1 ds), 134.9 (C-8, 1 ds), 109.7 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-13, 1 ds), 107.7 (C-10, 1 ds), 107.7 (C-10, 1 ds), 106.1 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 83.8 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.6 (C-2, 1 ds), 72.1 (C-3, 1 ds), 71.9 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.6 (C-6, 1 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-15, 1 ds), 56.4 (C-15, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (SiC(CH₃)₃), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.2 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃), 18.5 (SiC(CH₃)₃), 18.3 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), -4.0, -4.2, -4.3, -4.6, -4.7, -5.1, -5.2, -5.3, -5.4 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2929, 2898, 2857, 1522, 1472, 1463, 1389, 1362, 1335, 1273, 1254, 1220, 1165, 1124, 1097, 1081, 1025, 1005, 971, 939, 922, 873, 836, 777.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 724.3703 [M+Na]⁺, gef.: 724.3650 [M+Na]⁺.

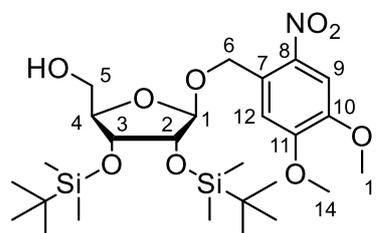
Darstellung von 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)- β -D-ribofuranosid **81**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-O-triphenylmethyl- β -D-ribofuranosid **85** (297 mg, 364 μ mol) in 3 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 3.8 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.20 mL, 1.4 mmol), gelöst in 0.8 mL abs. Dichlormethan, zugegeben und der Ansatz für fünf Minuten bei 0 °C gerührt. Zu dieser Lösung wurden 2.7 Äquiv. Trifluoressigsäure (0.08 mL, 1 mmol), gelöst in 0.6 mL abs. Dichlormethan, zugegeben und der Ansatz für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 4.1 Äquiv. Triethylamin (0.21 mL, 1.5 mmol) und 1.5 mL Methanol zugegeben und für weitere 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Wasser wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Zum Abspalten des 5'-Trifluoracetylestere wurde der Rückstand erneut in 10 mL Methanol gelöst, mit 0.4 mL Triethylamin versetzt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 80% (168 mg, 293 μ mol) eines orangen Harzes.

Summenformel: C₂₆H₄₇NO₉Si₂

Molare Masse: 573.8300 g/mol



81

DC: R_f-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.58.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.65 (s, 1H, H-12), 7.27 (s, 1H, H-9), 4.99 (d, ²J_{H,H} = 14.3 Hz, 1H, H-6_a), 4.86 (d, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-1), 4.82 (d, ²J_{H,H} = 14.3 Hz, 1H, H-6_b), 4.68 (t, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, 5-OH), 4.20 (dd, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, ³J_{H,H} = 4.2 Hz, 1H, H-3), 4.00 (dd, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-2), 3.89 (s, 3H, H-13), 3.86 (s, 3H, H-14), 3.84 – 3.82 (m, 1H, H-4), 3.58 (ddd, ²J_{H,H} = 11.9 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-5_a), 3.37 (ddd, ²J_{H,H} = 11.5 Hz, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, H-5_b), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.87 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 153.0 (C-11), 147.4 (C-10), 139.5 (C-8), 128.9 (C-7), 110.8 (C-9), 107.9 (C-12), 105.9 (C-1), 83.0 (C-4), 75.9 (C-2), 71.6 (C-3), 65.7 (C-6), 61.1 (C-5), 56.1 (C-14), 56.0 (C-13), 25.7 (SiC(CH₃)₃), 25.6 (SiC(CH₃)₃), 17.8 (SiC(CH₃)₃), 17.8 (SiC(CH₃)₃), -4.5, -4.7, -4.7, -5.1 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3562, 2952, 2929, 2857, 1618, 1582, 1521, 1463, 1439, 1391, 1361, 1327, 1275, 1254, 1220, 1161, 1089, 1067, 1028, 987, 940, 916, 872, 831, 794, 774, 755.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 596.2682 [M+Na]⁺, gef.: 596.2713 [M+Na]⁺.

Darstellung von 2',3'-Di-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid **82**

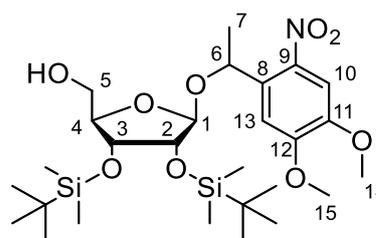
Synthese 1:

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)-5'-O-triphenylmethyl- β -D-ribofuranosid **86** (323 mg, 389 μ mol) in 3 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 3.7 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.20 mL, 1.4 mmol), gelöst in 0.8 mL abs. Dichlormethan, zugegeben und der Ansatz bei 0 °C für fünf Minuten gerührt. Zu dieser Lösung wurden 2.7 Äquiv. Trifluoressigsäure (0.08 mL, 1 mmol), gelöst in 0.6 mL abs. Dichlormethan, zugegeben und der Ansatz für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 3.9 Äquiv. Triethylamin (0.21 mL, 1.5 mmol) und 1.5 mL Methanol zugegeben und für weitere 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Wasser wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Zum Abspalten des 5'-Trifluoracetylestere wurde der Rückstand erneut in 10 mL Methanol gelöst, mit 0.4 mL Triethylamin versetzt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 \rightarrow 1:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 80% (192 mg, 327 μ mol) eines orangen Harzes.

Summenformel: C₂₇H₄₉NO₉Si₂

Molare Masse: 587.8570 g/mol



82

Synthese 2:

Es wurden 1.0 Äquiv. 2,3,5-*O,O,O*-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **87** (959 mg, 1.37 mmol) in 8 mL Tetrahydrofuran gelöst und die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die Zugabe von 2 mL Wasser und 2 mL Trifluoressigsäure. Die Reaktionslösung wurde für drei Stunden bei 0 °C gerührt und durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Dichlormethan beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 4:1 v/v).

Ausbeute: 77% (615 mg, 1.05 mmol) eines orangen Harzes.

DC: R_f -Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.31; 0.23.

Diastereomer 1:

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, CDCl_3 , 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10), 7.18 (s, 1H, H-13), 5.46 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 1H, H-6), 4.90 (bs, 1H, H-1), 4.24 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.1$ Hz, 1H, H-3), 4.00 – 3.98 (m, 1H, H-2), 3.98 (s, 3H, H-15), 3.96 – 3.94 (m, 1H, H-4), 3.94 (s, 3H, H-14), 3.65 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 2.5$ Hz, 1H, H-5_a), 3.36 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 2.8$ Hz, 1H, H-5_b), 1.49 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 3H, H-7), 0.90 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.11 (SiCH_3), 0.11 (SiCH_3), 0.09 (SiCH_3), 0.00 (SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, CDCl_3 , 300 K): 153.8 (C-12), 147.9 (C-11), 139.3 (C-9), 135.4 (C-8), 109.1 (C-13), 107.8 (C-10), 106.9 (C-1), 82.5 (C-4), 77.0 (C-2), 72.2 (C-6), 70.7 (C-3), 61.0 (C-5), 56.5 (C-15), 56.4 (C-14), 26.0 ($\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 25.9 ($\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 23.4 (C-7), 18.2 ($\text{Si}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 ($\text{Si}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), -4.1, -4.4, -4.5, -4.5 (SiCH_3).

Diastereomer 2:

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, CDCl_3 , 300 K): 7.56 (s, 1H, H-10), 7.11 (s, 1H, H-13), 5.52 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, 1H, H-6), 4.54 (bs, 1H, H-1), 4.33 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.0$ Hz, 1H, H-3), 4.03 (ddd, $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 2.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 2.6$ Hz, 1H, H-4), 3.99 (s, 3H, H-15), 3.95 (s, 3H, H-14), 3.89 – 3.85 (m, 2H, H-2, H-5_a), 3.59 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.1$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.0$ Hz, 1H, H-5_b), 1.53 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, 3H, H-7), 0.90 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.80 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.11, 0.10, 0.08, -0.13 (SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, CDCl_3 , 300 K): 153.8 (C-12), 148.1 (C-11), 140.8 (C-9), 134.5 (C-8), 108.8 (C-13), 107.7 (C-10), 105.5 (C-1), 82.5 (C-4), 76.9 (C-2), 70.6 (C-3), 70.3 (C-6), 61.3 (C5), 56.6 (C-15), 56.5 (C-14), 25.9 ($\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 25.8 ($\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 24.1 (C-7), 18.2 ($\text{Si}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 ($\text{Si}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), -4.1 (SiCH_3), -4.4 (SiCH_3), -4.6 (SiCH_3), -4.8 (SiCH_3).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2954, 2927, 2856, 1580, 1522, 1462, 1377, 1362, 1335, 1274, 1220, 1189, 1164, 1119, 1087, 1024, 996, 970, 942, 875, 836, 814, 795, 777.

HRMS: (ESI^+ , m/z): ber.: 588.3019 [$\text{M}+\text{Na}^+$], gef.: 588.3018 [$\text{M}+\text{Na}^+$].

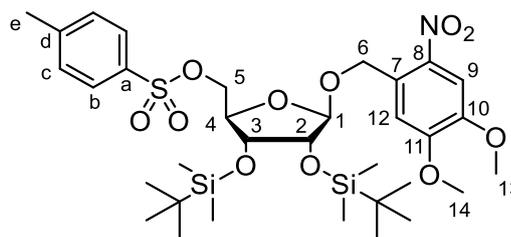
Darstellung von 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-O-tosyl- β -D-ribofuranosid 76

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)- β -D-ribofuranosid **81** (107 mg, 186 μmol) in 1 mL abs. Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 2.1 Äquiv. Tosylchlorid (76 mg, 0.40 mmol) zugegeben. Die Reaktion wurde nach 24 Stunden Rühren bei Raumtemperatur abgebrochen. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan ceovaporiert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 3:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 74% (100 mg, 137 μmol) eines orangefarbenes Harzes.

Summenformel: $\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{NO}_{11}\text{SSi}_2$

Molare Masse: 728.0130 g/mol



76

DC: R_f -Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.62.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): 7.71 (s, 1H, H-12), 7.63 – 7.59 (m, 2H, H-b), 7.24 – 7.21 (m, 2H, H-c), 7.20 (s, 1H, H-9), 4.91 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.5$ Hz, 1H, H-6_a), 4.88 (bs, 1H, H-1), 4.82 (d, $^2J_{\text{H,H}} = 14.3$ Hz, 1H, H-6_b), 4.36 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.1$ Hz, 1H, H-3), 4.20 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 10.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 2.3$ Hz, 1H, H-5_a), 4.13 – 4.10 (m, 1H, H-4), 4.08 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 10.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.4$ Hz, 1H, H-5_b), 4.01 (s, 3H, H-14), 3.99 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 4.1$ Hz, 1H, H-2), 3.96 (s, 3H, H-13), 2.39 (s, 3H, H-e), 0.88 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.87 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.09 (s, 3H, SiCH_3), 0.08 (s, 3H, SiCH_3), 0.07 (s, 3H, SiCH_3), 0.06 (s, 3H, SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): 153.8 (C-11), 148.0 (C-10), 145.1 (C-d), 139.7 (C-8), 132.7 (C-a), 129.9 (C-c), 129.6 (C-7), 127.9 (C-b), 110.8 (C-9), 108.0 (C-12), 106.5 (C-1), 79.3 (C-4), 76.2 (C-2), 71.4 (C-3), 68.5 (C-5), 66.5 (C-6), 56.5 (C-13), 56.4 (C-14), 25.9 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.8 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 21.7 (C-e), 18.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.1, -4.4, -4.5, -4.9 (SiCH_3).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2954, 2929, 2857, 1582, 1520, 1463, 1395, 1361, 1328, 1275, 1259, 1221, 1189, 1176, 1166, 1097, 1076, 1017, 987, 943, 912, 869, 835, 794, 776, 732, 706, 670.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 728.2951 [M+Na]⁺, gef.: 728.2938 [M+Na]⁺.

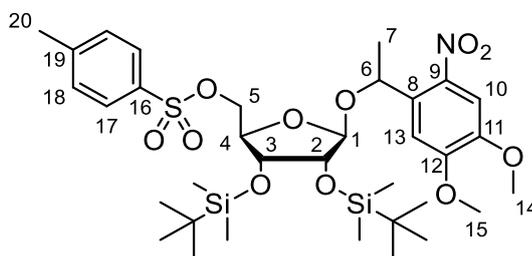
Darstellung von 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid 77

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid **82** (186 mg, 316 μmol) in 2.5 mL abs. Pyridin gelöst. Zu dieser Lösung wurden 2.5 Äquiv. Tosylchlorid (150 mg, 787 μmol) gegeben und der Ansatz anschließend für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 \rightarrow 5:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 88% (207 mg, 279 μmol) eines gelben, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₃₄H₅₅NO₁₁SSi₂

Molare Masse: 742.0400 g/mol



77

DC: R_f -Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.39.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.88 – 7.85 (m, 2H, H-17, 1 ds), 7.60 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.59 – 7.57 (m, 2H, H-17, 1 ds), 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.45 – 7.41 (m, 2H, H-18, 1 ds), 7.27 – 7.24 (m, 2H, H-18, 1 ds), 7.24 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.09 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.47 – 5.42 (m, 2H, H-6, 2 ds), 4.86 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.42 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.36 (dd, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.11 – 4.05 (m, 3H, H-3, 1 ds, H-5, 1 ds), 4.04 – 4.01 (m, 1H, H-4, 1 ds), 4.00 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.98 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.96 – 3.93 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_a, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 – 3.84 (m, 1H, H-2, 1 ds), 3.87 – 3.83 (m, 1H, H-5_b, 1 ds), 2.47 (s, 3H, H-20, 1 ds), 2.41 (s, 3H, H-20, 1 ds), 1.49 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.46 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.85 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.78 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.14 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.10 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.09 (s, 6H, SiCH₃, 2 ds), 0.07 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.03 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.00 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.13 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.9 (C-12, 1 ds), 153.7 (C-12, 1 ds), 148.0 (C-11, 1 ds), 147.8 (C-11, 1 ds), 145.1 (C-19, 1 ds), 144.9 (C-19, 1 ds), 141.0 (C-9, 1 ds), 139.3 (C-9, 1 ds), 135.7 (C-8, 1 ds), 134.6 (C-8, 1 ds), 132.9 (C-16, 1 ds), 132.6 (C-16, 1 ds), 130.2 (C-18, 1 ds), 129.9 (C-18, 1 ds), 128.2 (C-17, 1 ds), 127.9 (C-17, 1 ds), 109.5 (C-13, 1 ds), 108.6 (C-13, 1 ds), 107.8 (C-10, 1 ds), 107.8 (C-10, 1 ds), 106.2 (C-1, 1 ds), 104.3 (C-1, 1 ds), 79.4 (C-4, 1 ds), 79.0 (C-4, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 76.3 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 72.0 (C-6, 1 ds), 71.2 (C-3, 1 ds), 69.2 (C-6, 1 ds), 69.1 (C-5, 1 ds), 68.5 (C-5, 1 ds), 56.5, 56.5, 56.5 (C-14, C15, 2 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.7 (SiC(CH₃)₃), 23.7 (C-7, 1 ds), 22.9 (C-7, 1 ds), 21.8 (C-20, 1 ds), 21.8 (C-20, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -4.0, -4.2, -4.3, -4.4, -4.5, -4.9, -4.9 (SiCH₃).

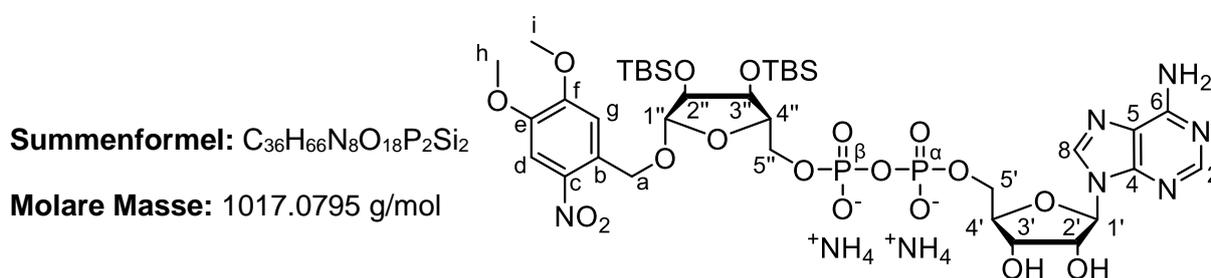
IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2927, 2856, 1737, 1581, 1520, 1462, 1364, 1336, 1274, 1220, 1189, 1177, 1097, 1082, 1061, 1020, 984, 969, 870, 838, 815, 778.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 764.2927 [M+Na]⁺, gef.: 764.2941 [M+Na]⁺.

Versuch der Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-tert-butyldimethylsilyl-1''-O-β-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-adenosindiphosphat-ribose 88

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-tert-butyldimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-O-tosyl-β-D-ribofuranosid **76** (96 mg, 0.13 mmol) in 1 mL abs. Acetonitril gelöst und 1.6 Äquiv. Tetrabutylammonium-Adenosindiphosphat (2.8 Äquiv. Bu₄N⁺, 226 mg, 207 μmol) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für sechs Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend für vier Tage bei 40 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt.

Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.



88

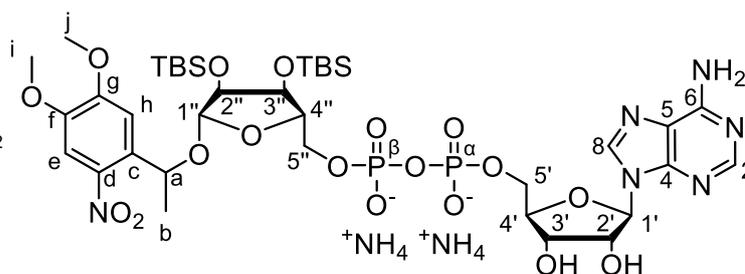
Versuch der Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-tert-butyldimethylsilyl-1''-O-β-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)adenosindiphosphat-ribose 89

Es wurden 1.3 Äquiv. Adenosindiphosphat (56 mg, 0.13 mmol) in 1 mL abs. N,N-Dimethylformamid suspendiert und mit 0.1 mL Triethylamin versetzt. Es erfolgte die Zugabe von Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung (40% in Wasser), bis eine klare Lösung erhalten wurde. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit abs. Acetonitril coevaporiert. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-tert-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-5'-O-tosyl-β-D-ribofuranosid **77** (75 mg, 0.10 mmol) in 1 mL abs Acetonitril gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die Zugabe des Adenosindiphosphats, welches zuvor in abs. Acetonitril gelöst wurde. Die Reaktionslösung wurde für eine Stunde bei 0 °C gerührt und anschließend die Kühlung entfernt. Nach einer Reaktionszeit von 18 Stunden wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt.

Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.

Summenformel: C₃₇H₆₈N₈O₁₈P₂Si₂

Molare Masse: 1031.1065 g/mol



89

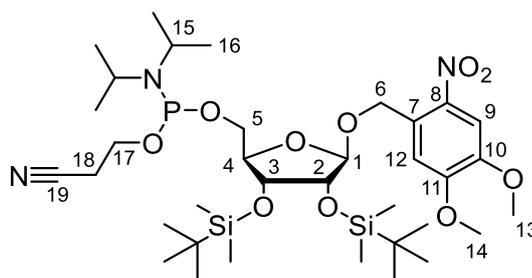
Darstellung von 2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-(2-cyanoethyl-diisopropylaminophosphoramidit)-β-D-ribofuranosid **78**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-β-D-ribofuranosid **81** (214 mg, 373 μmol) in 1 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und anschließend zu einer Suspension, bestehend aus 8.3 Äquiv. 2,4,6-Collidin (0.41 mL, 3.1 mmol), 0.7 Äquiv. Methylimidazol (0.01 mL, 0.2 mmol) und 3.0 Äquiv. 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorphosphoramidit (0.25 mL, 1.1 mmol) in 1 mL abs. Tetrahydrofuran, gegeben. Die Suspension wurde für 2.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend in 50 mL Ethylacetat aufgenommen und die organische Phase mit 50 mL verdünnter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5% in Wasser) gewaschen. Die wässrige Phase wurde erneut mit Ethylacetat extrahiert, die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 7:3 v/v + 0.1% Et₃N) gereinigt.

Ausbeute: 42% (121 mg, 156 μmol) eines gelben Feststoffes.

Summenformel: C₃₅H₆₄N₃O₁₀PSi₂

Molare Masse: 774.0518 g/mol



78

DC: *R*_f-Wert (PE/EE 7:3 v/v): 0.71.

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale nur eingeschränkt ausgewertet werden. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.70 (s, 1H, H-9, 1 ds), 7.69 (s, 1H, H-9, 1 ds), 7.22 (s, 2H, H-12, 2 ds), 5.16 (d, ²*J*_{H,H} = 15.5 Hz, 1H, H-6_a, 1 ds), 5.14 (d, ²*J*_{H,H} = 15.6 Hz, 1H, H-6_a, 1 ds), 4.17 – 4.10 (m, 2H, H-3, 2 ds), 4.05 – 3.99 (m, 2H, H-4, 2 ds), 3.99 (s, 6H, H-14/H-13, 2 ds), 3.95 (s, 6H, H-14/H-13, 2 ds), 3.90 – 3.48 (m, 8H, H-17, 2 ds, H-15, 2 ds), 2.58 (t, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 2H, H-18, 1 ds), 2.57 (t, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 2H, H-18, 1 ds), 1.13 (d, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, 2H, H-16, 1 ds), 1.11 (d, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, 2H, H-16, 1 ds), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.10 (s, 6H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 153.4 (C-11, 2 ds), 147.7 (C-10, 2 ds), 139.7 (C-8, 2 ds), 130.0 (C-7, 2 ds), 117.6 (C-19, 2 ds), 110.1 (C-12, 2 ds), 108.1 (C-9, 2 ds), 106.8 (C-1, 2 ds), 82.1 (C-4, 2 ds), 76.9 (C-2, 2 ds), 72.2 (C-3, 2 ds), 66.6 (C-6, 2 ds), 63.6 (C-5, 2 ds), 58.5 (C-17, 2 ds), 56.5, 56.5 (C-13, C-14, 2 ds), 43.5 (C-15, 2 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 24.9 (C-16, 2 ds), 20.4 (C-18, 2 ds), -4.1, -4.3, -4.4 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): 147.9 (s, 1 ds), 147.6 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958, 2929, 2857, 1581, 1520, 1463, 1394, 1362, 1327, 1275, 1257, 1220, 1163, 1126, 1068, 1024, 1006, 998, 948, 873, 835, 794, 775, 672, 521.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 774.3946 [M+H]⁺, gef.: 774.3936 [M+H]⁺.

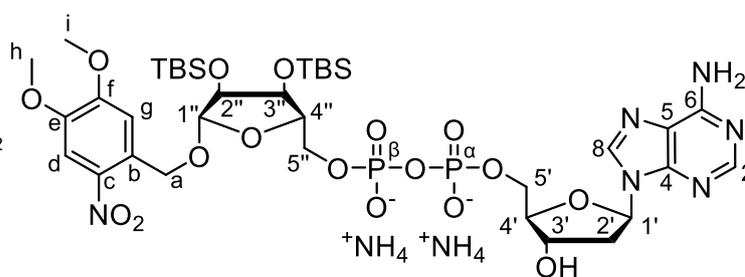
Versuch der Darstellung von 2'',3''-Di-O,*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1''-O-β-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-2'-desoxyadenosindiphosphat-ribose **90**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-(2-cyanoethyl-diisopropylaminophosphoramidit)-β-D-ribofuranosid **78** (119 mg, 154 μmol) in 20 mL abs. N,N-Dimethylformamid gelöst und 1.4 Äquiv. Triethylammonium-2'-Desoxyadenosinmonophosphat (1.4 Äquiv. Et₃NH⁺, 107 mg, 219 μmol) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 70 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, anschließend 1.3 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in *n*-Decan, 0.02 mL, 0.2 μmol) zugegeben und die Lösung weitere 40 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Es erfolgte die Zugabe von 46 Äquiv. Triethylamin (1.0 mL, 7.2 mmol) und nach weiteren 40 Minuten Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt.

Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.

Summenformel: C₃₆H₆₆N₈O₁₇P₂Si₂

Molare Masse: 1001.0805 g/mol



90

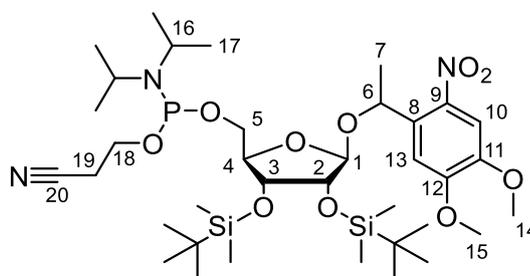
Darstellung von 2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid 79

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid **82** (218 mg, 371 μ mol) in 3 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst, mit 8.1 Äquiv. 2,4,6-Collidin (0.40 mL, 3.0 mmol) und 0.8 Äquiv. Methylimidazol (0.02 mL, 0.3 mmol) versetzt. Nach Zugabe von 2.5 Äquiv. 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorphosphoramidit (0.21 mL, 0.94 mmol) wurde der Ansatz für 3.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 70 mL Ethylacetat zugegeben und die organische Phase mit 70 mL verdünnter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5% in Wasser) und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 4:1 v/v + 0.05% Et₃N) gereinigt.

Ausbeute: 45% (132 mg, 167 μ mol) eines gelben Öls.

Summenformel: C₃₆H₆₆N₃O₁₀PSi₂

Molare Masse: 788.0788 g/mol



79

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 4:1 v/v + 0.05% Et₃N): 0.69.

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.59 (s, H-10, 1 ds), 7.59 (s, H-10, 1 ds), 7.55 (s, H-10, 1 ds), 7.55 (s, H-10, 1 ds), 7.28 (s, H-13, 1 ds), 7.24 (s, H-13, 1 ds), 7.11 (s, H-13, 1 ds), 7.11 (s, H-13, 1 ds), 5.59 – 5.50 (m, H-6, 2 ds), 5.49 – 5.43 (m, H-16, 2 ds), 4.91 (d, ³*J*_{H,H} = 1.5 Hz, H-1, 1 ds), 4.86 (d, ³*J*_{H,H} = 2.2 Hz, H-1, 1 ds), 4.52 (s, H-1, 1 ds), 4.46 (s, H-1, 1 ds), 4.24 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, H-3, 1 ds), 4.13 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, H-3, 1 ds), 4.09 – 4.04 (m, H-3, 1 ds, H-4, 2 ds), 4.03 – 3.85 (m, H-2, 4 ds, H-3, 1 ds, H-4, 2 ds, H-5, 1 ds, H-18, 2 ds), 3.99 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.98 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.98 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.94 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.94 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.82 – 3.70 (m, H-18, 2 ds), 3.70 – 3.59 (m, H-16, 2 ds, H-5, 1 ds), 3.59 – 3.45 (m, H-16, 2 ds, H-5, 1 ds), 3.37 – 3.31 (m, H-5, 1 ds), 3.31 – 3.24 (m, H-5, 1 ds), 2.71 – 2.65 (m, H-19, 2 ds), 2.61 – 2.54 (m, H-19, 2 ds), 1.53 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, H-7, 1 ds), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, H-7, 2 ds), 1.25 – 1.20 (m, H-17, 4 ds), 1.15 (d, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, H-17, 1 ds), 1.13 (d, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, H-17, 1 ds), 1.10 (d, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, H-17, 1 ds), 1.07 (d, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, H-17, 1 ds), 0.90, 0.90, 0.89, 0.88, 0.80, 0.80 (SiC(CH₃)₃), 0.12, 0.11, 0.10, 0.09, 0.09, 0.08, 0.08, 0.06, 0.02, 0.01, -0.11, -0.13 (SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 153.7 (C-12), 148.1, 147.9 (C-11), 141.0, 140.9, 139.3, (C-9), 136.4, 135.8, 134.9 (C-8), 109.7, 108.9 (C-13), 107.8, 107.5 (C-10), 106.4, 106.2, 104.9, 104.3 (C-1), 82.5, 82.1, 81.6 (C-4), 76.7 (C-2), 72.6, 72.2 (C-3), 71.6, 69.6, 68.8 (C-6), 64.8, 64.5, 63.5 (C-5), 58.8 (C-18), 56.5 (C-14/C15), 43.2 (C-16), 26.0, 25.8 (SiC(CH₃)₃), 24.9, 24.8, 24.7 (C-17), 23.8, 23.1 (C-7), 20.6 (C-19), 18.2, 18.1 (SiC(CH₃)₃), -4.3, -4.5, -4.7 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): 148.4 (s, 1 ds), 148.3 (s, 1 ds), 148.0 (s, 1 ds), 147.1 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960, 2930, 2857, 1519, 1463, 1364, 1334, 1271, 1219, 1164, 1121, 1080, 1024, 975, 873, 834, 794, 775, 734.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 810.3917 [M+H]⁺, gef.: 810.3934 [M+H]⁺.

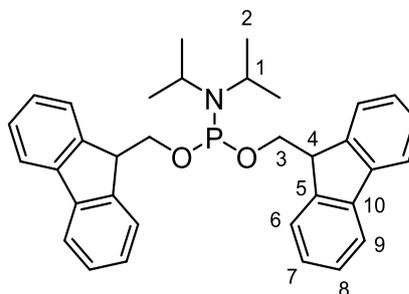
Darstellung von Bis-O-(9H-fluoren-9-ylmethyl)-N,N-diisopropylaminophosphoramidit **91**

Es wurden 1.0 Äquiv. Dichlor-N,N-diisopropylaminophosphin **92** (3.9 mL, 19 mmol) in 40 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu der gekühlten Lösung wurden langsam 2.2 Äquiv. Triethylamin (5.8 mL 42 mmol) und 2.1 Äquiv. 9-Fluorenmethanol (7.800 g, 39.75 mmol), gelöst in 40 mL abs. Tetrahydrofuran, zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wurde der Ansatz langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 18 Stunden gerührt. Die entstandene Suspension wurde filtriert, der Rückstand mit Ethylacetat gewaschen, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter Säulenchromatographie an Kieselgel (PE/EE 96:4 v/v + 1% Et₃N) gereinigt.

Ausbeute: 81% (8.197 g, 15.71 mmol) eines gelblichen Harzes.

Summenformel: C₃₄H₃₆NO₂P

Molare Masse: 521.6408 g/mol



91

DC: R_f-Wert (PE/EE 96:4 v/v + 1% Et₃N): 0.90.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.77 – 7.71 (m, 4H, H-9), 7.67 – 7.60 (m, 4H, H-6), 7.41 – 7.33 (m, 4H, H-8), 7.32 – 7.23 (m, 4H, H-7), 4.21 – 4.15 (m, 2H, H-4), 4.00 (ddd, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, ³J_{H,P} = 7.3 Hz, ²J_{H,H} = 9.9 Hz, 2H, H-3_a), 3.80 (ddd, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, ³J_{H,P} = 7.3 Hz, ²J_{H,H} = 9.9 Hz, 2H, H-3_b), 3.65 (dsept, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, ³J_{H,P} = 7.3 Hz, 2H, H-1), 1.15 (d, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 12H, H-2).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 145.1, 144.8 (C-5, C-5'), 141.5, 141.4 (C-10, C-10'), 127.5, 127.5 (C-8, C-8'), 127.0, 126.9 (C-7, C-7'), 125.6, 125.3 (C-6, C-6'), 120.0, 119.9 (C-9, C-9'), 66.1 (d, ²J_{C,P} = 17.2 Hz, C-3, C-3'), 49.3 (d, ³J_{C,P} = 7.5 Hz, C-4, C-4'), 43.2 (d, ²J_{C,P} = 12.5 Hz, C-1), 24.8 (d, ³J_{C,P} = 7.4 Hz, C-2).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): 146.2 (s).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3065, 3039, 2964, 2927, 2863, 1477, 1448, 1395, 1363, 1318, 1261, 1236, 1199, 1183, 1155, 1126, 1102, 1068, 1008, 973, 937, 884, 860, 796, 780, 757, 735, 661, 643, 621.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 544.2376 [M+Na]⁺, gef.: 544.2422 [M+Na]⁺.

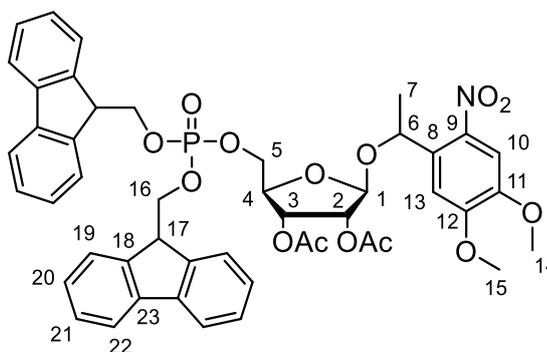
Darstellung von Bis-*O*-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-(2,3-di-*O*,*O*-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid)-5'-monophosphat **93**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-*O*,*O*-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **46** (504 mg, 1.14 mmol) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst, mit 1.2 Äquiv. Bis-*O*-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **91** (705 mg, 1.35 mmol) und 1.4 Äquiv. Pyridiniumtrifluoacetat (297 mg, 1.54 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1.2 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.25 mL, 1.4 mmol) zugegeben und für weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Produkt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 81% (814 mg, 925 μ mol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₄₇H₄₆NO₁₄P

Molare Masse: 879.8518 g/mol



93

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.13.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.74 – 7.68 (m, 8H, H-22, 2 ds), 7.61 – 7.46 (m, 10H, H-10, 2 ds, H-19, 2 ds), 7.41 – 7.31 (m, 8H, H-21, 2 ds), 7.31 – 7.21 (m, 8H, H-20, 2 ds), 7.14 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.12 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.61 – 5.53 (m, 2H, H-6), 5.34 – 5.31 (m, 1H, H-3, 1 ds), 5.30 – 5.25 (m, 3H, H-3, 1 ds, H-2, 2 ds), 5.10 (d, ³*J*_{H,H} = 0.9 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.70 (s, 1H, H-1), 4.37 – 4.32 (m, 2H, H-16, 1 ds), 4.30 – 4.25 (m, 3H, H-16, 1 ds, H-4, 1 ds), 4.25 – 4.16 (m, 5H, H-16, 2 ds, H-4, 1 ds, H-17, 2 ds), 4.16 – 4.03 (m, 6H, H-5, 2 ds, H-17, 2 ds), 4.01 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.93 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.85 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.78 (s, 3H, H-15, 1 ds), 2.10 (s, 3H, Ac, 1 ds), 2.00 (s, 3H, Ac, 1 ds), 1.98 (s, 6H, Ac, 2 ds), 1.46 – 1.44 (m, 6H, H-7, 2 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 169.9, 169.8, 169.7 (C=O, 2 ds), 154.1, 153.8 (C-12, 2 ds), 148.1, 147.8 (C-11, 2 ds), 143.3 – 143.1 (m, C-18, 2 ds), 141.5, 141.5, 141.4, 141.4 (C-23, 2 ds), 140.5, 139.4 (C-9, 2 ds), 134.7, 133.9 (C-8, 2 ds), 128.0, 128.0, 128.0 (C-21, 2 ds), 127.3, 127.2 (C-20, 2 ds), 125.3, 125.3, 125.3, 125.3 (C-19, 2 ds), 120.1, 120.1, 120.1 (C-22, 2 ds), 109.2, 108.6 (C-13, 2 ds), 107.8, 107.6, (C-10, 2 ds), 104.1, 103.0 (C-1, 2 ds), 79.2 (d, ³J_{P,C} = 8.3 Hz, C-4, 1 ds), 79.0 (d, ³J_{P,C} = 7.7 Hz, C-4, 1 ds), 74.9, 74.8 (C-2, 2 ds), 71.9 (C-6, 1 ds), 71.7, 71.2 (C-3, 2 ds), 70.2 (C-6, 1 ds), 69.6 – 69.5 (m, C-16, 2 ds), 67.7 – 67.5 (m, C-5, 2 ds), 56.6, 56.6, 56.5, 56.3 (C-14, 2 ds, C-15, 2 ds), 48.1 – 47.9 (m, C-17, 2 ds), 23.8, 22.7 (C-7, 2 ds), 20.7 – 20.5 (C=OCH₃, 2 ds).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): -1.5 (s, 1 ds), -1.6 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2925, 2853, 1749, 1580, 1519, 1450, 1373, 1334, 1273, 1242, 1219, 1171, 1017, 991, 900, 876, 843, 795, 759, 741.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 902.2548 [M+Na]⁺, gef.: 902.2614 [M+Na]⁺.

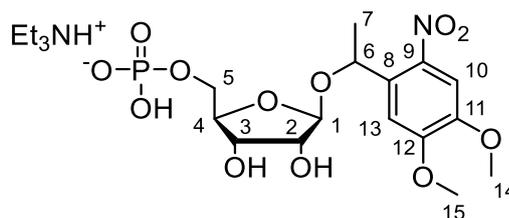
Darstellung von 1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl-d-ribose)-5'-mono-phosphat **80**

Es wurden 1.0 Äquiv. Bis-*O*-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-(2,3-di-*O*,*O*-acetyl-1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl-D-ribose)-5-monophosphat **93** (742 mg, 843 μ mol) in 22 mL Methanol/Triethylamin/Wasser 7:3:1 *v/v* gelöst und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in Dichlormethan und Wasser aufgenommen, die Phasen geschüttelt und mittels Zentrifugation (8000 rpm, 3 °C, 3 Minuten) wieder getrennt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase zwei weitere Male mit Dichlormethan und einmal mit Petrolether gewaschen. Die wässrige Phase wurde gefriergetrocknet und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 61% (289 mg, 515 μ mol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.2 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₁H₃₇N₂O₁₂P

Molare Masse: 540.5028 g/mol



80

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CD₃OD, 300 K): 7.59 (s, 2H, H-10, 2 ds), 7.33 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.24 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.46 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.42 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.95 (d, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.57 (d, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.22 (t, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.13 (dd, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.09 – 3.95 (m, 6H, H-4, 2 ds, H-2, 2 ds, H-5, 1 ds), 3.98 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.96 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.90 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.80 (ddd, ²J_{H,H} = 10.9 Hz, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, H-5_a, 1 ds), 3.72 (ddd, ²J_{H,H} = 10.8 Hz, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-5_b, 1 ds), 3.11 (q, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, N(CH₂CH₃)₃), 1.50 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.28 (d, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, N(CH₂CH₃)₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CD₃OD, 300 K): 155.3 (C-12, 1 ds), 155.2 (C-12, 1 ds), 149.5 (C-11, 1 ds), 149.3 (C-11, 1 ds), 142.2 (C-9, 1 ds), 140.7 (C-9, 1 ds), 136.6 (C-8, 1 ds), 135.3 (C-8, 1 ds), 111.0 (C-13, 1 ds), 110.2 (C-13, 1 ds), 108.8 (C-10, 1 ds), 108.8 (C-10, 1 ds), 108.2 (C-1, 1 ds), 106.3 (C-1, 1 ds), 84.0 (d, ³J_{P,C} = 8.5 Hz, C-4, 1 ds), 83.6 (d, ³J_{P,C} = 7.7 Hz, C-4, 1 ds), 76.7 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 73.4 (C-3, 1 ds), 73.3 (C-3, 1 ds), 73.2 (C-6, 1 ds), 71.1 (C-6, 1 ds), 67.7 (d, ²J_{P,C} = 28.0 Hz, C-5, 1 ds), 67.6 (d, ²J_{P,C} = 28.2 Hz, C-5, 1 ds), 57.1, 56.8, 56.8, 56.8 (C-14, 2 ds, C-15, 2 ds), 47.4 (N(CH₂CH₃)₃), 24.0 (C-7, 1 ds), 23.2 (C-7, 1 ds), 9.3 (N(CH₂CH₃)₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CD₃OD, 300 K): 2.5 (s, 1 ds), 2.4 (s, 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 462.0772 [M+Na]⁺, gef.: 462.0718 [M+Na]⁺.

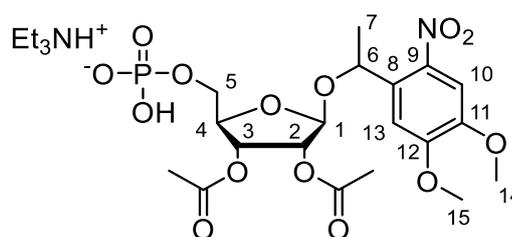
Darstellung von 2'-3'-Di-O,O-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **99** 5'-monophosphat **99**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)- β -D-ribofuranosid **46** (457 mg, 1.03 mmol) und 1.6 Äquiv. Bis-O-(9H-fluoren-9-ylmethyl)-N,N-diisopropylaminophosphoramidit **91** (848 mg, 1.63 mmol) in 20 mL Dichlormethan gelöst, mit 1.5 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (292 mg, 1.51 mmol) versetzt und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.3 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.25 mL, 1.4 mmol) zugegeben und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in 20 mL abs. Acetonitril gelöst und mit 5 mL Triethylamin versetzt. Die Reaktionslösung wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in 0.1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer aufgenommen und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser extrahiert und anschließend die wässrigen Phasen mit Petrolether gewaschen. Die wässrige Phase wurde lyophilisiert und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 63% (469 mg, 653 μ mol) eines farblosen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.9 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₅H₄₁N₂O₁₄P

Molare Masse: 624.5768 g/mol



99

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CD₃CN, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.31 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.22 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.45 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.43 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.26 (dd, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 5.23 – 5.18 (m, 3H, H-2, 2 ds, H-3, 1 ds), 5.10 (d, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.70 (d, ³J_{H,H} = 1.0 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.24 (dt, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 4.13 (dt, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.98 – 3.95 (m, 2H, H-5, 1 ds), 3.96 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.95 (s, 3H, H-15, 1 ds), 3.89 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.86 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.75 (ddd, ²J_{H,P} = 11.3 Hz, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_a, 1 ds), 3.65 (ddd, ²J_{H,P} = 11.3 Hz, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.7 Hz, 1H, H-5_b, 1 ds), 2.71 (q, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, N(CH₂CH₃)₃), 2.03 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.01 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.00 (s, 3H, OAc, 1 ds), 1.95 (s, 3H, OAc, 1 ds), 1.52 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.09 (t, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, N(CH₂CH₃)₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CD₃CN, 300 K): 171.0 (C=OCH₃), 170.7 (C=OCH₃), 155.0 (C-12, 1 ds), 154.7 (C-12, 1 ds), 149.0 (C-11, 1 ds), 148.9 (C-11, 1 ds), 141.3 (C-9, 1 ds), 140.0 (C-9, 1 ds), 135.4 (C-8, 1 ds), 134.6 (C-8, 1 ds), 110.9 (C-13, 1 ds), 110.1 (C-13, 1 ds), 108.6 (C-10, 1 ds), 108.5 (C-10, 1 ds), 105.6 (C-1, 1 ds), 103.8 (C-1, 1 ds), 81.5 (m, C-4, 1 ds), 81.4 (m, C-4, 1 ds), 75.8 (C-2, 1 ds), 75.5 (C-2, 1 ds), 73.3 (C-6, 1 ds), 72.8 (C-3, 1 ds), 72.4 (C-3, 1 ds), 70.7 (C-6, 1 ds), 65.9 (m, C-5, 2 ds), 57.2 (C-15, 1 ds), 56.9 (C-15, 1 ds), 56.9 (C-14, 1 ds), 56.9 (C-14, 1 ds), 46.7 (N(CH₂CH₃)₃), 23.9 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 20.8 (COCH₃, 1 ds), 20.8 (COCH₃, 1 ds), 20.8 (COCH₃, 1 ds), 10.6 (N(CH₂CH₃)₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CD₃CN, 300 K): 1.0 (s, 1 ds), 0.9 (s, 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 546.0983 [M+Na]⁺, gef.: 546.0966 [M+Na]⁺.

Darstellung von 1''-O-β-(1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose **69**

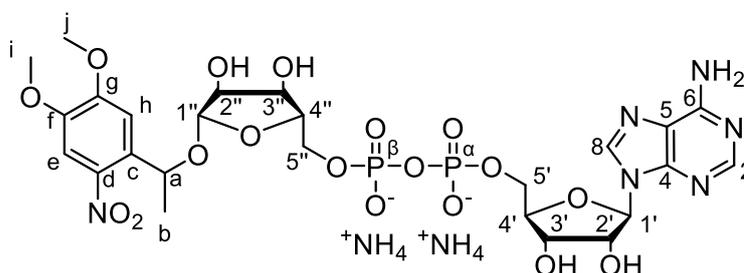
Es wurden 2.0 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (100 mg, 256 μmol) vorgelegt und in 5 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 29.6 Äquiv. Triethylamin (0.53 mL, 3.8 mmol) und 29.7 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.53 mL, 3.8 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 5 mL abs. Acetonitril gelöst. Es wurde der Ansatz erneut auf 0 °C gekühlt, erneut 31.9 Äquiv. Triethylamin (0.57 mL, 4.1 mmol) und 11.7 Äquiv. Methylimidazol (0.12 mL, 1.5 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. Triethylammonium-1-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl-D-ribosyl)-5-monophosphat **80** (1.2 Äquiv. Et₃NH⁺, 72 mg, 0.13 mmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0.1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer beendet, die Lösung lyophilisiert und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 44% (46 mg, 57 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₂₅H₄₀N₈O₁₈P₂

Molare Masse: 802.5802 g/mol



69

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, D_2O , 300 K): 8.49 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.43 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.26 (s, 1H, H-2, 1 ds), 8.26 (s, 1H, H-2, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-e, 1 ds), 7.49 (s, 1H, H-e, 1 ds), 7.16 (s, 1H, H-h, 1 ds), 7.06 (s, 1H, H-h, 1 ds), 6.08 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, 1H, H-1', 1 ds), 6.01 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$ Hz, 1H, H-1', 1 ds), 5.41 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 1H, H-a, 1 ds), 5.37 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, 1H, H-a, 1 ds), 5.03 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 2.4$ Hz, 1H, H-1'', 1 ds), 4.74 – 4.71 (m, 2H, H-1'', 1 ds, H-2', 1 ds), 4.66 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 5.4$ Hz, 1H, H-2', 1 ds), 4.54 – 4.52 (m, 1H, H-3', 1 ds), 4.51 – 4.49 (m, 1H, H-3', 1 ds), 4.41 – 4.39 (m, 1H, H-4', 1 ds), 4.33 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.0$ Hz, 1H, H-3'', 1 ds), 4.29 – 4.26 (m, 1H, H-5', 1 ds), 4.24 – 4.20 (m, 2H, H-3'', 1 ds, H-5', 1 ds), 4.18 – 4.11 (m, 3H, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds, H-5'', 1 ds), 4.08 – 3.99 (m, 4H, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds, H-5'', 2 ds), 3.94 – 3.88 (m, 1H, H-5'', 1 ds), 3.93 (s, 3H, H-j, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-j, 1 ds), 3.89 (s, 3H, H-i, 1 ds), 3.85 (s, 3H, H-i, 1 ds), 1.46 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 3H, H-b, 1 ds), 1.41 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, 3H, H-b, 1 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, D_2O , 300 K): 153.2 (C-g, 1 ds), 153.1 (C-6, 2 ds), 153.0 (C-g, 1 ds), 149.4 (C-2, 1 ds), 149.2 (C-2, 1 ds), 148.6 (C-4, 1 ds), 148.5 (C-4, 1 ds), 147.2 (C-f, 1 ds), 147.0 (C-f, 1 ds), 140.7 (C-8, 1 ds), 140.7 (C-8, 1 ds), 140.0 (C-d, 1 ds), 139.1 (C-d, 1 ds), 134.4 (C-c, 1 ds), 133.4 (C-c, 1 ds), 118.4 (C-5, 2 ds), 109.5 (C-h, 1 ds), 108.9 (C-h, 1 ds), 107.9 (C-e, 1 ds), 107.6 (C-e, 1 ds), 106.6 (C-1'', 1 ds), 105.0 (C-1'', 1 ds), 87.3 (C-1', 1 ds), 87.2 (C-1', 1 ds), 83.9 (C-4', 1 ds), 83.8 (C-4, 1 ds), 81.5 (C-4'', 2 ds), 74.8 (C-2'', 1 ds), 74.5 (C-2', 1 ds), 74.4 (C-2', 1 ds), 74.4 (C-2'', 1 ds), 73.1 (C-a, 1 ds), 71.1 (C-a, 1 ds), 70.9 (C-3'', 1 ds), 70.8 (C-3'', 1 ds), 70.2 (C-3', 1 ds), 70.2 (C-3', 1 ds), 66.6 (m, C-5'', 2 ds), 65.2 (m, C-5', 2 ds), 56.3, 56.2, 56.1, 56.0 (C-i, 2 ds, C-j, 2 ds), 22.4 (C-b, 1 ds), 21.7 (C-b, 1 ds).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, D_2O , 300 K): -11.0 – -11.4 (m, 4P, P_α , 2 ds. P_β , 2 ds).

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 769.1478 [M+H]⁺, gef.: 769.1466 [M+H]⁺.

Darstellung von 1''-O-β-(1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-2'-desoxyadenosin-diphosphat-ribose 71

Synthese 1:

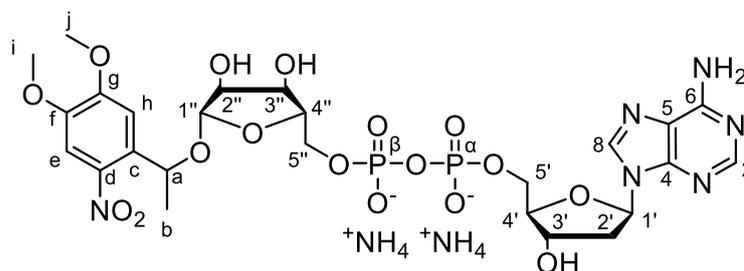
Es wurden 2.1 Äquiv. Natrium-2'-desoxyadenosinmonophosphat (100 mg, 267 μmol) vorgelegt und in 5 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 29.6 Äquiv. Triethylamin (0.53 mL, 3.8 mmol) und 29.7 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.53 mL, 3.8 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 5 mL abs. Acetonitril gelöst. Es wurde der Ansatz erneut auf 0 °C gekühlt, erneut 31.9 Äquiv. Triethylamin (0.57 mL, 4.1 mmol) und 11.7 Äquiv. Methylimidazol (0.12 mL, 1.5 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. Triethylammonium-1-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl-D-ribose)-5-monophosphat **80** (1.2 Äquiv. Et₃NH⁺, 72 mg, 0.13 mmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer beendet, die Lösung lyophilisiert und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 77% (77 mg, 0.10 mmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₂₅H₄₀N₈O₁₇P₂

Molare Masse: 786.5815 g/mol



71

Synthese 1:

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)-5'-(2-cyanoethyl-diisopropylaminophosphoramidit)- β -D-ribofuranosid **79** in 1.5 mL abs. N,N-Dimethylformamid gelöst und die Lösung auf 40 °C erhitzt. Es erfolgte die gleichzeitige Zugabe von 1.7 Äquiv. Tetrabutylammonium-2'-Desoxyadenosinmonophosphat (1.9 Äquiv. Bu₄N⁺, 215 mg, 281 μ mol) und 1.6 Äquiv. Pyridiniumtrifluoacetat (50 mg, 0.26 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung für eine Stunde gerührt. Nach der Zugabe von 1.7 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in *n*-Decan, 0.05 mL, 0.3 mmol) wurde die Lösung weitere 30 Minuten bei 40 °C gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechende Fraktion lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde in 5 mL abs. Acetonitril gelöst und mit 1 mL Triethylamin und 0.5 mL Triethylamin-Trihydrofluorid (37%) versetzt. Der Ansatz wurde für zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges Fluorid-Reagenz wurde anschließend durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat verwendet um das Produkt mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz zu überführen, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, D₂O, 300 K): 8.45 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.38 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.22 (s, 1H, H-2, 1 ds), 8.22 (s, 1H, H-2, 1 ds), 7.51 (s, 1H, H-e, 1 ds), 7.46 (s, 1H, H-e, 1 ds), 7.14 (s, 1H, H-h, 1 ds), 7.03 (s, 1H, H-h, 1 ds), 6.44 (t, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 1H, H-1', 1 ds), 6.35 (t, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 1H, H-1', 1 ds), 5.40 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-a, 1 ds), 5.35 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-a, 1 ds), 5.05 (d, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-1'', 1 ds), 4.77 – 4.70 (m, 3H, H-1'', 1 ds, H-3', 2 ds), 4.33 (dd, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-3'', 1 ds), 4.30 – 4.26 (m, 1H, H-4', 1 ds), 4.26 – 4.18 (m, 3H, H-3'', 1 ds, H-5', 1 ds), 4.18 – 4.09 (m, 5H, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds, H-5'', 1 ds, H-5'', 1 ds), 4.08 – 3.99 (m, 4H, H-4'', 1 ds, H-2'', 1 ds, H-5'', 1 ds), 3.94 – 3.86 (m, 1H, H-5'', 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-j, 1 ds), 3.89 (s, 3H, H-j, 1 ds), 3.88 (s, 3H, H-i, 1 ds), 3.83 (s, 3H, H-i, 1 ds), 2.77 (ddd, ²J_{H,H} = 13.9 Hz, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, 1H, H-2'a, 1 ds), 2.71 (ddd, ²J_{H,H} = 13.9 Hz, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, ³J_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-2'a, 1 ds), 2.58 (ddd, ²J_{H,H} = 13.9 Hz, ³J_{H,H} = 6.3

Hz, $^3J_{H,H} = 3.7$ Hz, 1H, H-2'_b, 1 ds), 2.50 (ddd, $^2J_{H,H} = 14.1$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 3.5$ Hz, 1H, H-2'_b, 1 ds), 1.44 (d, $^3J_{H,H} = 6.3$ Hz, 3H, H-b, 1 ds), 1.37 (d, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, 3H, H-b, 1 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, D₂O, 300 K): 153.2 (C-6, 2 ds), 153.2 (C-g, 1 ds), 153.0 (C-g, 1 ds), 149.5 (C-8, 1 ds), 149.5 (C-8, 1 ds), 148.2 (C-4, 1 ds), 148.1 (C-4, 1 ds), 147.2 (C-f, 1 ds), 146.9 (C-f, 1 ds), 140.7 (C-2, 1 ds), 140.6 (C-2, 1 ds), 140.0 (C-d, 1 ds), 139.1 (C-d, 1 ds), 134.3 (C-c, 1 ds), 133.4 (C-c, 1 ds), 118.3 (C-5, 2 ds), 109.4 (C-h, 1 ds), 108.9 (C-h, 1 ds), 107.8 (C-e, 1 ds), 107.6 (C-e, 1 ds), 106.4 (C-1', 1 ds), 104.9 (C-1', 1 ds), 85.8 (C-4', 1 ds), 85.8 (C-4', 1 ds), 83.9 (C-1', 1 ds), 83.9 (C-1', 1 ds), 81.5 (C-4'', 1 ds), 81.5 (C-4'', 1 ds), 74.7 (C-2'', 1 ds), 74.4 (C-2'', 1 ds), 72.8 (C-a, 1 ds), 71.1 (C-3'', 1 ds), 71.0 (C-3', 1 ds), 71.0 (C-3', 1 ds), 70.8 (C-a, 1 ds), 70.8 (C-3'', 1 ds), 66.6 (m, C-5'', 2 ds), 65.4 (m, C-5', 2 ds), 56.3 (C-j, 1 ds), 56.2 (C-j, 1 ds), 56.1 (C-i, 1 ds), 56.0 (C-i, 1 ds), 39.2 (C-2', 1 ds), 39.1 (C-2', 1 ds), 22.4 (C-b, 1 ds), 21.6 (C-b, 1 ds).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, D₂O, 300 K): -11.0 – -11.4 (m, 4P, P _{α} , 2 ds. P _{β} , 2 ds).

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 769.1478 [M+H]⁺, gef.: 769.1466 [M+H]⁺.

Darstellung von 2'',3''-Diacetyl-1''-O-β-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose 65

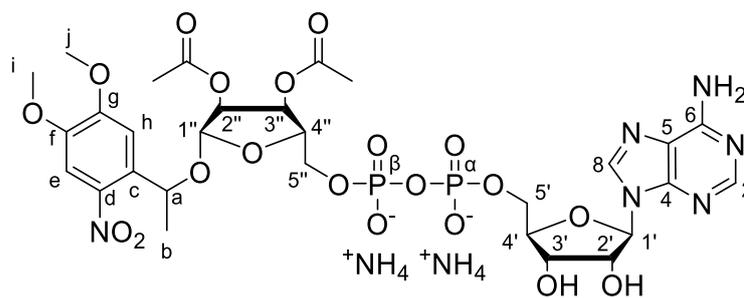
Es wurden 2.0 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (110 mg, 281 μmol) vorgelegt und in 5 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 28.8 Äquiv. Triethylamin (0.58 mL, 4.2 mmol) und 28.8 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.58 mL, 4.2 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 5 mL abs. Acetonitril gelöst. Der Ansatz wurde auf 0 °C gekühlt, erneut 35.7 Äquiv. Triethylamin (0.72 mL, 5.2 mmol) sowie 13.0 Äquiv. Methylimidazol (0.15 mL, 1.9 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. Triethylammonium-2'-3'-Di-O,O-acetyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl-D-ribosyl)-5-monophosphat **99** (1.9 Äquiv. Et₃NH⁺, 104 mg, 145 μmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 48% (59 mg, 70 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₂₉H₄₄N₈O₂₀P₂

Molare Masse: 886.6545 g/mol



65

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, D₂O, 300 K): 8.56 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.47 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.30 (s, 1H, H-2, 1 ds), 8.29 (s, 1H, H-2, 1 ds), 7.48 (s, 1H, H-e, 1 ds), 7.46 (s, 1H, H-e, 1 ds), 7.16 (s, 1H, H-h, 1 ds), 7.08 (s, 1H, H-h, 1 ds), 6.10 (d, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, H-1', 1 ds), 5.99 (d, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-1', 1 ds), 5.40 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-a, 1 ds), 5.38 – 5.31 (m, 2H, H-3'', 1 ds, H-a, 1 ds), 5.30 – 5.27 (m, 2H, H-2'', 1 ds, H-3'', 1 ds), 5.19 (dd, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, H-2'', 1 ds), 5.16 (s, 1H, H-1'', 1 ds), 4.84 (d, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-1'', 1 ds), 4.72 (t, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-2', 1 ds), 4.64 (t, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-2', 1 ds), 4.54 (dd, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-3', 1 ds), 4.49 (dd, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, H-3', 1 ds), 4.42 – 4.36 (m, 2H, H-4', 1 ds, H-4'', 1 ds), 4.35 – 4.25 (m, 4H, H-4', 1 ds, H-4'', 1 ds, H-5', 1 ds), 4.23 – 4.17 (m, 3H, H-5', 1 ds, H-5'', 1 ds), 4.11 – 3.99 (m, 2H, H-5'', 1 ds), 3.96 – 3.90 (m, 1H, H-5'', 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-j, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-j, 1 ds), 3.85 (s, 3H, H-i, 1 ds), 3.83 (s, 3H, H-i, 1 ds), 2.12 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.10 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.08 (s, 3H, OAc, 1 ds), 2.02 (s, 3H, OAc, 1 ds), 1.43 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, H-b, 1 ds), 1.42 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-b, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, D₂O, 300 K): 172.8 (COCH₃, 1 ds), 172.8 (COCH₃, 1 ds), 172.7 (COCH₃, 1 ds), 172.5 (COCH₃, 1 ds), 153.2 (C-g, 1 ds), 153.0 (C-g, 1 ds), 151.8 (C-6, 1 ds), 151.7 (C-6, 1 ds), 148.4 (C-4, 1 ds), 148.3 (C-4, 1 ds), 147.5 (C-2, 1 ds), 147.4 (C-2, 1 ds), 147.2 (C-f, 1 ds), 147.0 (C-f, 1 ds), 141.3 (C-8, 1 ds), 141.2 (C-8, 1 ds), 139.9 (C-d, 1 ds), 139.1 (C-d, 1 ds), 134.0 (C-c, 1 ds), 133.4 (C-c, 1 ds), 118.3 (C-5, 1 ds), 118.2 (C-5, 1 ds), 109.3 (C-h, 1 ds), 108.9 (C-h, 1 ds), 107.7 (C-e, 1 ds), 107.5 (C-e, 1 ds), 104.2 (C-1'', 1 ds), 103.4 (C-1'', 1 ds), 87.5 (C-1', 1 ds), 87.4 (C-1', 1 ds), 83.8 (m, C-4', 1 ds), 83.8 (m, C-4', 1 ds), 79.7 (m, C-4'', 1 ds), 79.5 (m, C-4', 1 ds), 74.8, 74.7, 74.6, 74.5 (C-2', 2 ds, C-2'', 2 ds), 72.8 (C-a, 1 ds), 71.6 (C-3'', 1 ds), 71.4 (C-3'', 1 ds, C-a, 1 ds), 70.2 (C-3', 1 ds), 70.1 (C-3', 1 ds), 66.2 (m, C-5'', 1 ds), 66.0 (m, C-5'', 1 ds), 65.0 (m, C-5', 1 ds), 64.9 (m, C-5', 1 ds), 56.3, 56.2, 56.0, 56.0 (C-i, C-j, 2 ds), 22.4 (C-b, 1 ds), 21.6 (C-b, 1 ds), 20.0 (COCH₃, 1 ds), 19.9 (COCH₃, 1 ds), 19.9 (COCH₃, 1 ds), 19.8 (COCH₃, 1 ds).

³¹P-NMR: δ [ppm] (242 MHz, D₂O, 300 K): -11.1 – -11.6 (m, 2P, P_α, P_β, 2 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 769.1478 [M+H]⁺, gef.: 769.1466 [M+H]⁺.

7.2.5 Synthese von bioreversibel-maskiertem caged ADPR

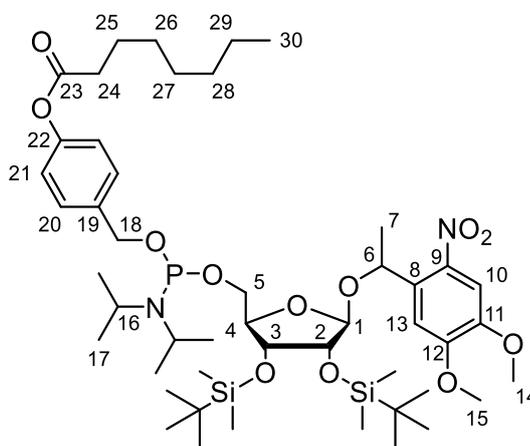
Darstellung von (2',3'-Di-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-O-MeNV- β -D-ribofuranosyl)-(4-octanoyloxybenzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **107**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid **81** (790 mg, 1.34 mmol) und 1.2 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamino)-O-(4-octanoyloxybenzyl)phosphoramidit **44** (788 mg, 1.64 mmol) in 10 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst, mit 1.1 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (289 mg, 1.50 mmol) versetzt und der Reaktionsansatz für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/Et₃N 19:1 v/v).

Ausbeute: 96% (1.253 mg, 1.295 mmol) eines gelben Öls.

Summenformel: C₄₈H₈₃N₂O₁₂PSi₂

Molare Masse: 967.3378 g/mol



107

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerenmisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

DC: R_f-Wert (PE/Et₃N 19:1 v/v): 0.19.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, H-10, 1 ds), 7.55 (s, H-10, 2 ds), 7.55 (s, H-10, 1 ds), 7.40 – 7.35 (m, H-20, 2 ds), 7.33 – 7.27 (m, H-20, 2 ds, H-13, 2 ds), 7.12 (s, H-13, 2 ds), 7.11 (s, H-13, 2 ds), 7.05 – 6.99 (m, H-21, 4 ds), 5.57 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-6, 1 ds), 5.54 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-6, 1 ds), 5.48 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, H-6, 2 ds), 4.90 (d, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, H-1, 1 ds), 4.88 (d, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, H-1, 1 ds), 4.82 – 4.52 (m, H-18, 4 ds), 4.56 (s, H-1, 1 ds), 4.50 (s, H-1, 1 ds), 4.34 (d, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.0 Hz, H-3, 1 ds), 4.16 (d, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.9 Hz, H-3, 1 ds), 4.12 – 4.05 (m, H-3, 2 ds, H-4, 2 ds), 4.01 – 3.87 (m, H-4, 2 ds, H-2, 4 ds, H-5, 1 ds), 3.97, 3.96, 3.94, 3.93, 3.91, 3.90, 3.87 (H-14, H-15, 4 ds), 3.81 – 3.74 (m, H-5, 1 ds), 3.74 – 3.63 (m, H-5, 2 ds, H-16, 2 ds), 3.63 – 3.48 (m, H-5, 2 ds, H-16, 2 ds), 3.45 – 3.37 (m, H-5, 1 ds), 2.58 – 2.50 (m, H-24, 4 ds), 1.80 – 1.69 (m, H-25, 2 ds), 1.51 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-7, 1 ds), 1.49 – 1.44 (m, H-7, 3 ds), 1.44 – 1.27 (m, H-26, H-27, H-28, H-29, 4 ds), 1.27 – 1.18 (m, H-17, 2 ds), 1.17 – 1.09 (m, H-17, 2 ds), 0.02, 0.01, -0.11, -0.13 (SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 172.5 (C-23, 4 ds), 153.6 (C-12, 4 ds), 150.0 (C-22, 4 ds), 148.0, 147.9 (C-11, 4 ds), 141.2, 139.7 (C-9, 4 ds), 137.7 (C-19, 4 ds), 136.6, 135.2 (C-8, 4 ds), 128.1, 128.0, 127.9 (C-20, 4 ds), 121.5, 121.4, 121.4 (C-21, 4 ds), 109.9, 109.2 (C-13, 4 ds), 107.7 (C-10, 4 ds), 106.7, 105.3, 104.4 (C-1, 4 ds), 82.9, 82.0 (C-4, 4 ds), 76.9 (C-2, 4 ds), 72.8, 72.5, 72.0 (C-3, 4 ds), 72.5, 70.0, 69.5 (C-6, 4 ds), 65.0 (C-18, 4 ds), 64.9, 64.5, 63.9, 62.7 (C-5, 4 ds), 56.5 (C-14, 4 ds, C-15, 4 ds), 43.1 (C-16, 4 ds), 35.0 (C-24, 4 ds), 31.8, 29.2, 29.2, 29.1 (C-26, C-27, C-28, C-29, 4 ds), 26.0, 25.1, 25.1 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (C-25, 4 ds), 24.7 (C-17, 4 ds), 23.7, 22.7 (C-7, 4 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 14.2 (C-30, 4 ds), -0.4 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): 147.5 (s, 1 ds), 147.3 (s, 1 ds), 147.3 (s, 1 ds), 146.8 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2957, 2929, 2857, 1760, 1581, 1520, 1462, 1363, 1334, 1272, 1219, 1198, 1184, 1164, 1088, 1025, 994, 973, 873, 834, 793, 774, 972, 640.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 989.5114 [M+Na]⁺, gef.: 989.5088 [M+Na]⁺.

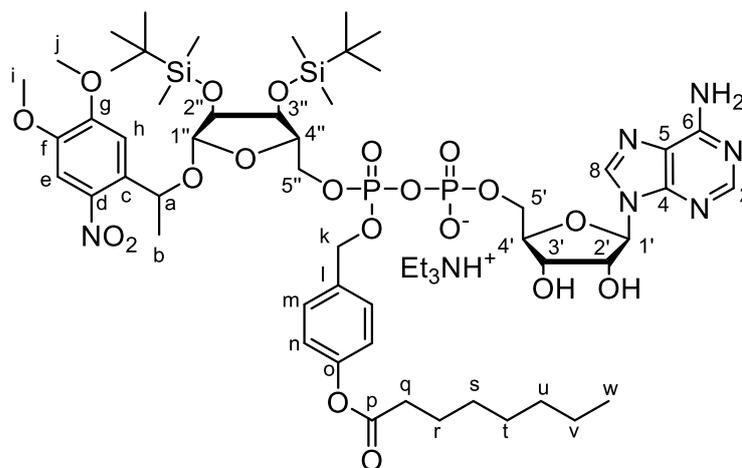
Darstellung von 2'',3''-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1''-O-β-MeNV-P_β-(4-octanoyloxybenzyl)adenosindiphosphat-ribose **108**

Es wurden 1.0 Äquiv. (2',3'-Di-O,O-tert-butylidimethylsilyl-1'-O-MeNV-β-D-ribofuranosyl)-(4-octanoyloxybenzyl)-N,N-diisopropylaminophosphoramidit **107** (145 mg, 150 μmol) und 1.2 Äquiv. Triethylammonium-Adenosinmonophosphat (1.6 Äquiv. Et₃NH⁺, 91 mg, 0.18 mmol) vorgelegt, in 25 mL abs. N,N-Dimethylformamid gelöst und auf 40 °C erwärmt. Es erfolgte die Zugabe von Pyridiniumtrifluoacetat (48 mg, 0.25 mmol) und der Ansatz wurde für eine Stunde bei 40 °C gerührt. Anschließend wurden 1.8 Äquiv. tert-Butylhydroperoxid (5.5 M in n-Decan, 0.05 mL, 0.3 mmol) zugegeben und für weitere 30 Minuten bei 30 °C gerührt. Es wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 51% (100 mg, 76.3 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 0.8 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₅₈H₉₇N₇O₂₀P₂Si₂

Molare Masse: 1330.5605 g/mol



108

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomergemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): .43 (s, H-8, 1 ds), 8.43 (s, H-8, 1 ds), 8.42 (s, H-8, 1 ds), 8.41 (s, H-8, 1 ds), 8.14 (s, H-2, 1 ds), 8.13 (s, H-2, 3 ds), 7.53 (s, H-e, 2 ds), 7.50 (s, H-e, 1 ds), 7.49 (s, H-e, 1 ds), 7.48 – 7.45 (m, H-m, 2 ds), 7.38 – 7.35 (m, H-m, 2 ds), 7.25 – 7.21 (m, H-h, 2 ds), 7.16 (s, H-h, 1 ds), 7.15 (s, H-h, 1 ds), 7.10 – 7.02 (m, H-n, 4 ds), 5.94 – 5.90 (m, H-1', 4 ds), 5.33 – 5.25 (m, H-a, 4 ds), 5.16 – 5.05 (m, H-k, 2 ds), 4.98 (d, H-k, ³J_{H,P} = 6.5 Hz, 1 ds), 4.94 (d, H-k, ³J_{H,P} = 6.5 Hz, 1 ds), 4.84 (d, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, H-1'', 1 ds), 4.83 (d, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, H-1'', 1 ds), 4.64 – 4.57 (m, H-2', 4 ds), 4.42 (s, H-1'', 2 ds), 4.23 – 4.16 (m, H-3', H-3'', 4 ds), 4.09 – 3.90 (m, H-2'', H-4', 4 ds, H-5'/H-5'', 4 ds), 3.90, 3.89, 3.86, 3.85 (s, H-j, 4 ds), 3.84, 3.80, 3.79 (s, H-i, 4 ds), 3.78 – 3.73 (m, 1H, H-5'/H-5'', 1 ds), 3.11 – 3.04 (m, N(CH₂CH₃)₃), 2.58 – 2.54 (m, H-q, 4 ds), 1.67 – 1.59 (m, H-r, 4 ds), 1.46 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-b, 1 ds), 1.44 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-b, 1 ds), 1.41 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, H-b, 2 ds), 1.39 – 1.21 (m, H-s, H-t, H-u, H-v, 4 ds), 1.16 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, N(CH₂CH₃)₃), 0.87, 0.86, 0.81, 0.81, 0.74 (SiC(CH₃)₃), 0.10, 0.08, 0.04, 0.03, 0.03, 0.02, 0.00, 0.00, -0.03 (SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 171.7 (C-p, 4 ds), 156.0 (C-6, 4 ds), 153.3 (C-g, 2 ds), 153.1 (C-g, 2 ds), 152.5 (C-2, 4 ds), 150.1 (C-o, 4 ds), 149.7 (C-4, 4 ds), 147.7 (C-f, 2 ds), 147.3 (C-f, 2 ds), 140.0 (C-d, 2 ds), 139.2 (C-8, 4 ds), 139.1 (C-d, 2 ds), 134.2 (C-c, 2 ds), 134.1 (C-l, 4 ds), 132.9 (C-c, 2 ds), 128.9 (C-m, 4 ds), 121.6 (C-n, 4 ds), 118.9 (C-5, 4 ds), 109.7 (C-h, 2 ds), 109.1 (C-h, 2 ds), 107.7 (C-e, 4 ds), 105.9 (C-1'', 2 ds), 104.5 (C-1'', 2 ds), 86.6 (C-1', 4 ds), 84.0 (C-4', 4 ds), 81.5 (C-4'', 2 ds), 80.4 (C-4'', 2 ds), 73.8 (C-2', 4 ds), 72.1 (C-a, 2 ds), 71.2 (C-3', 4 ds), 71.0 (C-3'', 4 ds), 69.1 (C-a, 2 ds), 67.6 (m, H-k, 4 ds), 66.5, 65.4 (m, H-5', H-5'', 4 ds), 56.1, 56.0 (C-i, C-j, 4 ds), 45.6 (N(CH₂CH₃)₃), 33.5 (C-q, 4 ds), 31.1, 28.3, 22.0 (C-s, C-t, C-u, C-v, 4 ds), 25.7, 25.6, 25.6, 25.5 (SiC(CH₃)₃), 24.3 (C-r, 4 ds), 23.0 (C-b, 4 ds), 17.8, 17.8, 17.6, 17.6 (SiC(CH₃)₃), 13.8 (C-w, 4 ds), 8.6 (N(CH₂CH₃)₃), -4.5, -4.6, -4.7, -4.8, -4.9, -5.0, -5.1 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): -10.2 – -10.5 (m, 1P, P_α, 4 ds), -10.6 – -11.0 (m, 1P, P_β, 4 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1229.4670 [M+H]⁺, gef.: 1229.4625 [M+H]⁺.

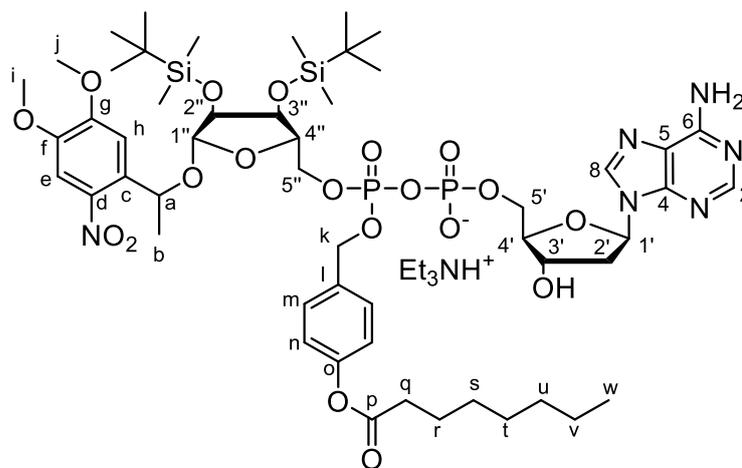
Darstellung von 2'',3''-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1''-*O*- β -MeNV-*P* β -(4-octanoyloxybenzyl)-2'-desoxyadenosindiphosphat-ribose **109**

Es wurden 1.0 Äquiv. (2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-*O*-MeNV- β -D-ribofuranosyl)-(4-octanoyloxybenzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **107** (161 mg, 166 μ mol) und 1.2 Äquiv. Triethylammonium-2'-desoxyadenosinmonophosphat (1.5 Äquiv. Et₃NH⁺, 99 mg, 0.20 mmol) vorgelegt, in 20 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid vollständig gelöst und auf 40 °C erwärmt. Es erfolgte die Zugabe von Pyridiniumtrifluoacetat (48 mg, 0.25 mmol) und der Ansatz wurde für 30 Minuten bei 40 °C gerührt. Anschließend wurden 1.7 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.05 mL, 0.3 mmol) zugegeben und für weitere 30 Minuten bei 30 °C gerührt. Es wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 46% (138 mg, 105 μ mol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 0.95 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₅₈H₉₇N₇O₁₉P₂Si₂

Molare Masse: 1313.5853 g/mol



109

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 8.41 (s, H-8, 1 ds), 8.40 (s, H-8, 1 ds), 8.39 (s, H-8, 1 ds), 8.38 (s, H-8, 1 ds), 8.13 (s, H-2, 4 ds), 7.53 (s, H-e, 2 ds), 7.50 – 7.44 (m, H-e, 2 ds, H-m, 2 ds), 7.39 – 7.34 (m, H-m, 2 ds), 7.26 – 7.21 (m, H-h, 2 ds), 7.16 (s, H-h, 1 ds), 7.15 (s, H-h, 1 ds), 7.10 – 7.00 (m, H-n, 4 ds), 6.40 – 6.33 (m, H-1', 4 ds), 5.34 – 5.25 (m, H-a, 4 ds), 5.18 – 5.05 (m, H-k, 2 ds), 4.98 (d, ³J_{H,P} = 6.4 Hz, H-k, 1 ds), 4.93 (d, ³J_{H,P} = 6.5 Hz, H-k, 1 ds), 4.85 (d, ³J_{H,H} = 2.6 Hz, H-1'', 1 ds), 4.84 (d, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, H-1'', 1 ds), 4.49 – 4.41 (m, H-1'', 2 ds, H-3', 4 ds), 4.24 – 4.16 (m, H-5'', 1 ds, H-3'', 2 ds), 4.09 – 3.88 (m, H-5'', 1 ds, H-3'', 2 ds, H-2'', 4 ds, H-4'', 2 ds, H-4', 2 ds), 3.87 – 3.83 (m, H-4'', 2 ds, H-5', 2 ds, H-5'', 1 ds), 3.90 (s, H-15, 1 ds), 3.86 (s, H-15, 1 ds), 3.85 (s, H-15, 2 ds), 3.84 (s, H-14, 1 ds), 3.80 (s, H-14, 1 ds), 3.79 (s, H-14, 2 ds), 3.81 – 3.71 (m, H-5'', 1 ds), 3.10 – 3.01 (m, N(CH₂CH₃)₃), 2.76 – 2.65 (m, H-2', 4 ds), 2.56 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, H-q, 4 ds), 2.30 – 2.21 (m, H-2', 4 ds), 1.68 – 1.58 (m, H-r, 4 ds), 1.48 – 1.39 (M, H-b, 4 ds), 1.39 – 1.22 (m, H-s, H-t, H-u, H-v, 4 ds), 1.15 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, N(CH₂CH₃)₃), 0.89 – 0.82 (m, H-w, 4 ds), .86, 0.81, 0.74 (SiC(CH₃)₃), 0.10, 0.07, 0.03, 0.03, 0.02, 0.01, 0.00, -0.03, -0.16 (SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 171.7 (C-p, 4 ds), 155.9 (C-6, 4 ds), 153.2 (C-g, 2 ds), 153.0 (C-g, 2 ds), 150.2 (C-o, 4 ds), 149.2 (C-4, 4 ds), 147.7 (C-f, 2 ds), 147.4 (C-f, 2 ds), 140.7 (C-d, 2 ds), 139.1 (C-d, 2 ds), 134.2 (C-l, 4 ds), 134.1 (C-c, 2 ds), 132.8 (C-c, 2 ds), 128.9 (C-m, 2 ds), 128.8 (C-m, 2 ds), 121.6 (C-n, 2 ds), 121.5 (C-n, 2 ds), 118.9 (C-5, 4 ds), 109.7 (C-h, 2 ds), 109.1 (C-h, 2 ds), 107.4 (C-e, 2 ds), 107.3 (C-e, 2 ds), 106.0 (C-1'', 2 ds), 104.5 (C-1'', 2 ds), 86.0 (C-4', 2 ds), 83.1 (C-4', 2 ds), 81.4 (C-4'', 2 ds), 80.2 (C-4'', 2 ds), 75.9 (C-2'', 2 ds), 75.6 (C-2'', 2 ds), 72.0 (C-3'', 2 ds), 71.4 (C-3'', 2 ds), 71.3 (C-3', 2 ds), 71.1 (C-3', 2 ds), 69.2 (C-a, 2 ds), 67.4 (C-a, 2 ds), 67.4, (m, C-k, 4 ds), 66.8, 65.5 (C-5', C-5'', 4 ds), 56.1, 56.1, 55.9 (C-i, C-j, 4 ds), 45.5 (N(CH₂CH₃)₃), 39.5 (C-2'', 4 ds), 33.4 (C-q, 4 ds), 31.1, 28.3, 22.0 (C-s, C-t, C-u, C-v, 4 ds), 25.6, 25.6, 25.5 (SiC(CH₃)₃), 24.3 (C-r, 4 ds), 23.2, 22.6, 22.5 (C-b, 4 ds), 17.7, 17.6, 17.6 (SiC(CH₃)₃), 13.9 (C-w, 4 ds), 8.5 (N(CH₂CH₃)₃), -4.5, -4.7, -4.9, -5.0, -5.2 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): -11.4 – -11.8 (m, 1P, P_α, 4 ds), -12.0 – -12.3 (m, 1P, P_β, 4 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1213.4721 [M+H]⁺, gef.: 1213.4702 [M+H]⁺.

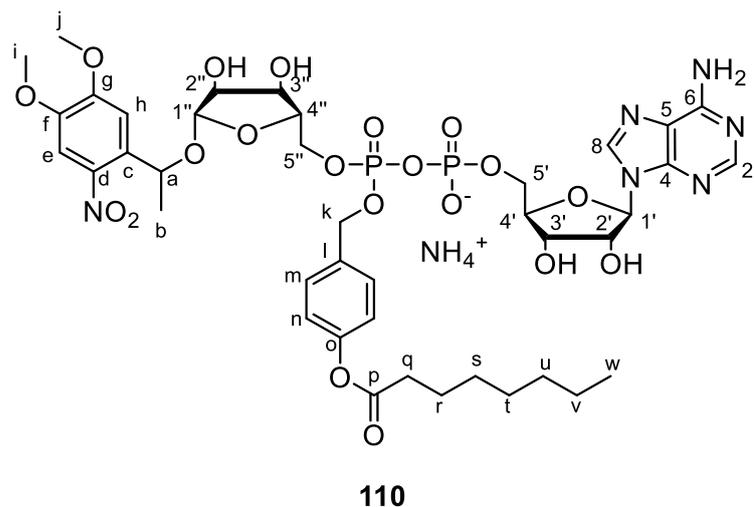
Versuch der Darstellung von 1''-O- β -MeNV- P_{β} -(4-octanoyloxybenzyl)-2'-desoxy-adenosindiphosphat-ribose **110**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2'',3''-Di-O,*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1''-O- β -MeNV- P_{β} -(4-octanoyloxybenzyl)-adenosindiphosphat-ribose **108** (0.8 Äquiv. Et_3NH^+ , 38 mg, 29.0 μmol) in 2 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 10 Vol.% Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in Tetrahydrofuran) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden wurde Triethylammoniumacetat-Puffer zugegeben (2M) und die Lösung mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH_3CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ 100% CH_3CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.

Summenformel: $\text{C}_{40}\text{H}_{57}\text{N}_7\text{O}_{20}\text{P}_2$

Molare Masse: 1017.8725 g/mol



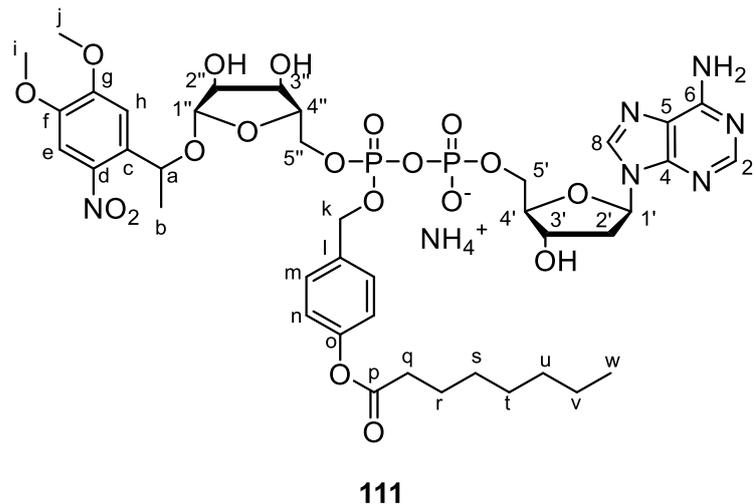
Versuch der Darstellung von 1''-O-β-MeNV-Pβ-(4-octanoyloxybenzyl)-2'-desoxyadenosindiphosphat-ribose 111

Es wurden 1.0 Äquiv. 2'',3''-Di-O,*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1''-O-β-MeNV-Pβ-(4-octanoyloxybenzyl)-2'-desoxyadenosindiphosphat-ribose **109** (0.8 Äquiv. Et₃NH⁺, 104 mg, 80.4 μmol) in 6 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 10 Vol.% Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in Tetrahydrofuran) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden wurde Triethylammoniumacetat-Puffer zugegeben (2M) und die Lösung mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.

Summenformel: C₄₀H₅₇N₇O₁₉P₂

Molare Masse: 1001.8735 g/mol



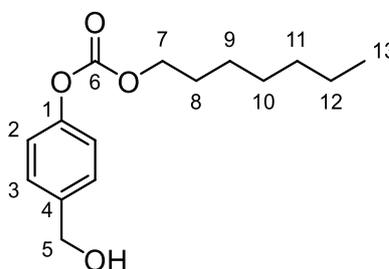
Darstellung von 4-(Hydroxymethyl)phenylheptylcarbonat 118

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-Hydroxybenzylalkohol **49** (3.014 g, 24.28 mmol) in 40 mL abs. Tetrahydrofuran gegeben, mit 1.0 Äquiv. Triethylamin (3.4 mL, 24 mmol) versetzt und auf 0°C gekühlt. Zur gekühlten Lösung wurde langsam eine Lösung aus 0.9 Äquiv. *n*-Heptylchlorformiat **117** (3.8 mL, 21 mmol) in 10 mL abs. Tetrahydrofuran getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung für zwei Stunden bei 0 °C gerührt und anschließend filtriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der erhaltene Rückstand in Dichlormethan gelöst. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 4:1 v/v).

Ausbeute: 71% (3.995 g, 15.00 mmol) eines farblosen Öls.

Summenformel: C₁₅H₂₂O₄

Molare Masse: 266.3370 g/mol



118

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 4:1 v/v): 0.33.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.40 – 7.36 (m, 2H, H-3), 7.18 – 7.15 (m, 2H, H-2), 4.68 (s, 2H, H-5), 4.24 (t, 2H, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, H-7), 1.74 (p, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, H-8), 1.45 – 1.38 (m, 2H, H-9), 1.38 – 1.26 (m, 6H, H-10, H-11, H-12), 0.90 (t, 3H, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, H-13).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.9 (C-6), 150.7 (C-1), 138.8 (C-4), 128.2 (C-3), 121.3 (C-2), 69.2 (C-7), 64.8 (C-5), 31.8, 29.0, 22.7, (C-10, C-11, C-12), 28.7 (C-8), 25.8 (C-9), 14.2 (C-13).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3356, 2956, 2927, 2857, 1758, 1608, 1508, 1466, 1419, 1391, 1244, 1210, 1044, 1014, 958, 820, 779, 724, 603, 507.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 289.1410 [M+Na]⁺, gef.: 289.1393 [M+Na]⁺.

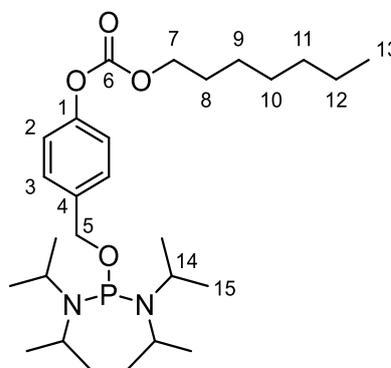
Darstellung von Bis(*N,N*-diisopropylamino)-*O*-(4-heptyloxycarbonyloxybenzyl)-phosphoramidit **116**

Es wurden 1.0 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamin)chlorphosphin **48** (1.616 g, 6.057 mmol) in 15 mL abs. Tetrahydrofuran suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Zu der gekühlten Lösung wurden langsam 1.7 Äquiv. Triethylamin (1.3 mL 9.3 mmol) und 0.9 Äquiv. 4-(Hydroxymethyl)-phenylheptylcarbonat **118** (1.453 g, 5.455 mmol), gelöst in 15 mL abs. Tetrahydrofuran, zuge tropft. Nach vollständiger Zugabe wurde der Ansatz langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 18 Stunden gerührt. Die entstandene Suspension wurde filtriert, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/Et₃N 95:5 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 74% (2.010 g, 4.047 mmol) eines farblosen Öls.

Summenformel: C₂₇H₄₉N₂O₄P

Molare Masse: 496.6728 g/mol



116

DC: *R_f*-Wert (PE/Et₃N 95:5 v/v): 1.00.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.39 – 7.35 (m, 2H, H-3), 7.14 – 7.11 (m, 2H, H-2), 4.63 (d, ³J_{H,P} = 7.1 Hz, H-5), 4.24 (t, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, H-7), 3.57 (d, ³J_{H,P} = 10.9 Hz, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, H-14), 1.74 (p, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, H-8), 1.44 – 1.24 (m, 8H, H-9, H-10, H-11, H-12), 1.18 (d, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, H-15), 1.17 (d, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, H-15), 0.89 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, H-13).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 154.0 (C-6), 150.2 (C-1), 138.5 (d, ³J_{C,P} = 10.1 Hz, C-4), 127.9 (C-3), 120.8 (C-2), 69.1 (C-7), 65.7 (d, ²J_{C,P} = 23.9 Hz, C-5), 44.7 (d, ²J_{C,P} = 12.4 Hz, C-14), 31.8, 29.0, 25.8, 22.7 (C-9, C-10, C-11, C-12), 28.8 (C-8), 24.8 (d, ³J_{C,P} = 7.9 Hz, C-15), 24.0 (d, ³J_{C,P} = 5.8 Hz, C-15), 14.2 (C-13).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃, 300 K): 124.6 (s).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2963, 2928, 2862, 1761, 1508, 1457, 1390, 1378, 1362, 1244, 1219, 1198, 1184, 1157, 1116, 1046, 1016, 951, 866, 780, 749, 694, 642, 625, 526.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 497.3503 [M+H]⁺, gef.: 497.3478 [M+H]⁺.

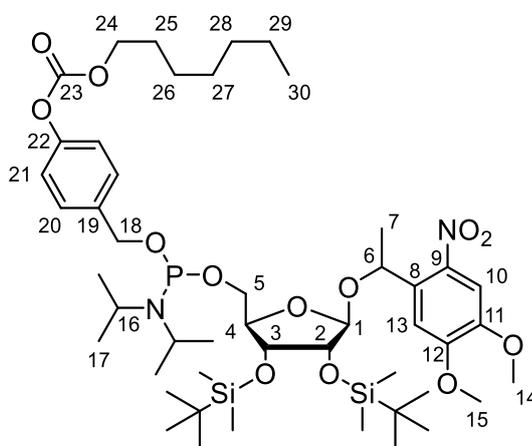
Darstellung von (2',3'-Di-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-O-MeNV- β -D-ribofuranosyl)-(4-heptyloxycarbonyloxybenzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **119**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Di-O,O-*tert*-Butyldimethylsilyl-1'-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethyl)- β -D-ribofuranosid **81** (249 mg, 423 μ mol) und 1.2 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamino)-O-(4-heptyloxycarbonyloxybenzyl)phosphoramidit **116** (252 mg, 507 μ mol) in 10 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst, mit 1.2 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (101 mg, 523 μ mol) versetzt und der Reaktionsansatz für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/Et₃N 19:1 v/v).

Ausbeute: 89% (370 mg, 376 μ mol) eines grünlichen Öls.

Summenformel: C₄₈H₈₃N₂O₁₃PSi₂

Molare Masse: 983.3368 g/mol



119

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerenmisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

DC: *R_f*-Wert (PE/Et₃N 19:1 v/v): 0.23.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, H-10, 1 ds), 7.55 (s, H-10, 2 ds), 7.55 (s, H-10, 1 ds), 7.40 – 7.36 (m, H-20, 2 ds), 7.34 – 7.26 (m, H-20, 2 ds, H-13, 2 ds), 7.16 – 7.09 (m, H-21, 4 ds, H-13, 2 ds), 5.61 – 5.51 (m, H-6, 2 ds), 5.48 (q, ³J_{H,H} = 6.2, H-6, 2 ds), 4.90 (d, ³J_{H,H} = 2.2, H-1, 1 ds), 4.88 (d, ³J_{H,H} = 2.8, H-1, 1 ds), 4.82 – 4.49 (m, H-18, 4 ds), 4.55 (s, H-1, 1 ds), 4.50 (s, H-1, 1 ds), 4.33 (dd, ³J_{H,H} = 7.7, ³J_{H,H} = 4.0, H-3, 1 ds), 4.26 – 4.21 (m, H-24, 4 ds), 4.15 (dd, ³J_{H,H} = 7.3, ³J_{H,H} = 4.0, H-3, 1 ds), 4.12 – 4.04 (m, H-4, 2 ds, H-3, 2 ds), 4.01 – 3.86 (m, H-4, 2 ds, H-2, 4 ds, H-5, 1 ds), 3.97 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.96 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.94 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.93 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.92 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.91 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.90 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.87 (s, H-14/H-15, 1 ds), 3.82 – 3.63 (m, H-5, 1 ds, H-16, 2 ds), 3.63 – 3.48 (m, H-16, 2 ds, H-5, 1 ds), 3.45 – 3.36 (m, H-5, 1 ds), 1.79 – 1.69 (m, H-25, 4 ds), 1.53 – 1.45 (m, H-7, 4 ds), 1.43 – 1.27 (m, H-27, H-27, H-28, H-29, 4 ds), 1.27 – 1.18 (m, H-17, 2 ds), 1.17 – 1.09 (m, H-17, 2 ds), 0.93 – 0.84 (m, H-30, 4 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.9 (C-23), 153.6 (C-12), 150.4 (C-22), 147.8 (C-11), 140.8, 139.2 (C-9), 137.5 (C-19), 136.5, 135.1 (C-8), 128.1, 128.0, 127.9 (C-20), 120.9, 120.9 (C-21), 109.9, 108.9 (C-13), 107.7 (C-10), 106.6, 105.3, 104.4 (C-1), 82.6, 81.7 (C-4), 76.9 (C-2), 72.5, 69.4 (C-6), 72.5, 71.7 (C-3), 69.2 (C-24), 65.2, 64.8 (C-18), 64.4, 63.8, 62.7 (C-5), 56.5, 56.4 (C-14/C-15), 43.2 (C-16), 31.8, 29.0, 25.4, 22.7 (C-26, C-27, C-28, C-29), 28.7 (C-25), 26.0, 25.9, 25.8 (SiC(CH₃)₃), 24.9, 24.7 (C-17), 24.0, 23.3 (C-7), 18.3, 18.2 (SiC(CH₃)₃), 14.2 (C-30), -4.3, -4.6 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): 147.6 (s, 1 ds), 147.4 (s, 2 ds), 146.8 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958, 2929, 2857, 1762, 1581, 1520, 1462, 1390, 1363, 1334, 1271, 1250, 1218, 1185, 1165, 1122, 1087, 1015, 973, 873, 834, 793, 774, 733, 672, 594, 508.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 983.5244 [M+H]⁺, gef.: 983.5296 [M+H]⁺.

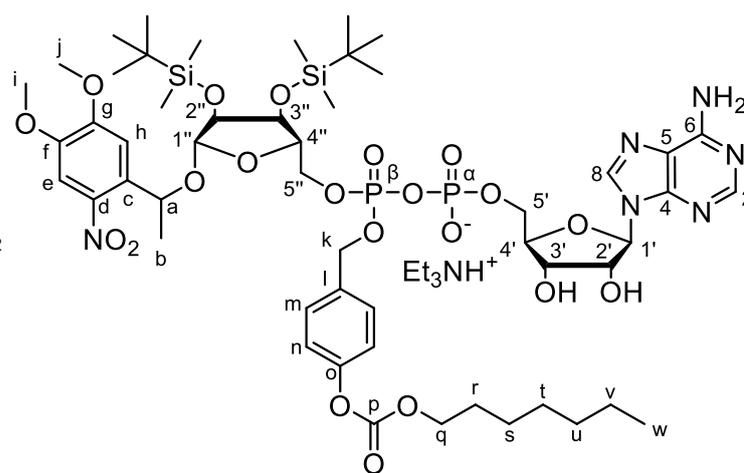
Darstellung von 2'',3''-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1''-*O*- β -MeNV- P_{β} -(4-heptyloxy-carbonyloxybenzyl)adenosindiphosphat-ribose **120**

Es wurden 1.0 Äquiv. (2',3'-Di-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1'-*O*-MeNV- β -D-ribofuranosyl)-(4-octanoyloxybenzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **119** (359 mg, 365 μ mol) und 1.3 Äquiv. Triethylammonium-Adenosinmonophosphat (1.6 Äquiv. Et_3NH^+ , 225 mg, 469 μ mol) vorgelegt, in 5 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und auf 35 °C erwärmt. Es erfolgte die Zugabe von 1.2 Äquiv. Pyridiniumtrifluoacetat (84 mg, 0.43 mmol) und der Ansatz wurde für eine halbe Stunde bei 35 °C gerührt. Anschließend wurden 1.5 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.10 mL, 0.55 mmol) zugegeben und für weitere 30 Minuten bei 30 °C gerührt. Es wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH_3CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 22% (110 mg, 81.7 μ mol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.0 Äquiv. Triethylammonium erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{58}\text{H}_{97}\text{N}_7\text{O}_{21}\text{P}_2\text{Si}_2$

Molare Masse: 1346.5595 g/mol



120

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 8.40 (s, H-8, 1 ds), 8.40 (s, H-8, 1 ds), 8.37 (s, H-8, 1 ds), 8.36 (s, H-8, 1 ds), 8.14 (brs, H-2, 4 ds), 7.52 – 7.41 (m, H-m, 2 ds, H-e, 4 ds), 7.39 – 7.31 (m, H-m, 2 ds), 7.24 (s, H-h, 1 ds), 7.23 (s, H-h, 1 ds), 7.18 – 7.06 (m, H-h, 2 ds, H-n, 4 ds), 6.01 – 5.97 (m, H-1', 4 ds), 5.43 – 5.35 (m, H-a, 4 ds), 5.21 – 5.15 (m, H-k, 2 ds), 5.01 – 4.91 (m, H-1'', 2 ds, H-k, 2 ds), 4.60 – 4.51 (m, H-2', 4 ds), 4.49 (s, H-1'', 2 ds), 4.46 – 4.37 (m, H-3'', 2 ds), 4.32 – 4.02 (m, H-3'', 2 ds, H-3', 4 ds, H-4', 4 ds, H-q, 4 ds, H-5'/H-5'', 3 ds), 4.00 – 3.90 (m, H-4'', 4 ds, H-2'', H-4 ds), 3.91 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.90 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.88 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.85 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.85 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.82 – 3.76 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 3.80 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.79 (s, H-i/H-j, 1 ds), 2.99 (q, ³J_{H,H} = 7.3, N(CH₂CH₃)₃), 1.74 – 1.66 (m, H-r, 4 ds), 1.49 – 1.42 (m, H-b, 4 ds), 1.42 – 1.25 (m, H-s, H-t, H-u, H-v, 4 ds), 1.16 (t, ³J_{H,H} = 7.3, N(CH₂CH₃)₃), 0.93 – 0.86 (m, H-w, 4 ds), 0.89 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.85 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.84 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.82 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.77 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.76 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.12 (s, SiCH₃), 0.12 (s, SiCH₃), 0.10 (s, SiCH₃), 0.10 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.05 (s, SiCH₃), 0.04 (s, SiCH₃), 0.03 (s, SiCH₃), 0.01 (s, SiCH₃), 0.00 (s, SiCH₃), -0.01 (s, SiCH₃), -0.14 (s, SiCH₃), -0.15 (s, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 154.8, 154.4 (C-g), 154.8 (C-p), 152.1 (C-o), 149.0, 148.8 (C-f), 140.4 (C-d), 139.8 (C-8), 137.8 (C-l), 136.1 (C-c), 130.2 (C-m), 122.3 (C-n), 110.9, 110.8, 110.2 (C-h), 108.5 (C-e), 106.9, 106.1 (C-1''), 89.1 (C-1'), 84.1 (C-4'), 82.3, 81.5 (C-4''), 77.4 (C-2''), 76.1 (C-2'), 73.3 (C-3'), 72.6 (C-a), 72.6, 71.6 (C-3''), 70.5 (C-a), 69.8 (C-q), 69.4 (C-k), 68.8, 66.5 (C-5', C-5''), 57.1, 56.9, 56.8 (C-i, C-j), 46.9 (N(CH₂CH₃)₃), 32.5, 29.6, 26.4, 23.3 (C-s, C-t, C-u, C-v), 29.3 (C-r), 26.8, 26.1 (SiC(CH₃)₃), 24.0, 22.9 (C-b), 18.8, 18.7, 18.6 (SiC(CH₃)₃), 14.4 (C-w), 9.0 (N(CH₂CH₃)₃), -3.9, -4.0, -4.1, -4.2, -4.3, -4.4, -4.6, -4.6 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): -10.5 – -11.1 (m, P_α, P_β, 4 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1245.4620 [M+H]⁺, gef.: 1245.4718 [M+H]⁺.

Darstellung von 1''-O- β -MeNV- P_{β} -(4-heptyloxy-carbonyloxybenzyl)adenosindiphosphat-ribose **121**

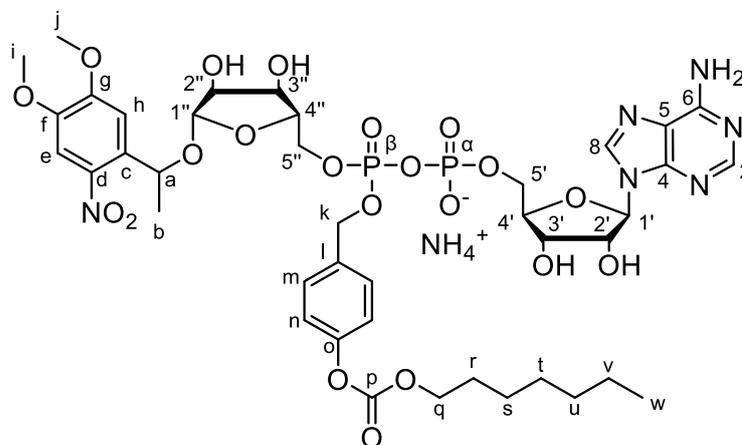
Es wurden 1.0 Äquiv. 2'',3''-Di-O,*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1''-O- β -MeNV- P_{β} -(4-heptyloxy-carbonyloxybenzyl)adenosindiphosphat-ribose **120** (1.0 Äquiv. Et₃NH⁺, 90 mg, 67 μ mol) in 18 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 4.5 Äquiv. einer Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid und Essigsäure in Tetrahydrofuran (1 M, 0.30 mL, 0.30 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in Triethylammoniumacetat-Puffer (2 M) aufgenommen. Die Lösung wurde mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 22% (15 mg, 15 μ mol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren.

Summenformel: C₄₀H₅₇N₇O₂₁P₂

Molare Masse: 1033.8715 g/mol



121

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 8.57 (s, H-8, 1 ds), 8.56 (s, H-8, 1 ds), 8.55 (s, H-8, 1 ds), 8.54 (s, H-8, 1 ds), 8.25 (s, H-2, 2 ds), 8.25 (s, H-2, 2 ds), 7.56 (s, H-e, 2 ds), 7.51 – 7.46 (s, H-e, 2 ds, H-m, 2 ds), 7.40 – 7.35 (s, H-m, 2 ds), 7.23 – 7.13 (m, H-n, 4 ds, h, 4 ds), 7.09 (brs, NH₄⁺), 6.99 (brs, NH₄⁺), 5.95 (d, ³J_{H,H} = 5.9, H-1', 2 ds), 5.94 (d, ³J_{H,H} = 5.9, H-1', 2 ds), 5.31 – 5.24 (m, H-a, 4 ds), 5.12 – 5.06 (m, H-k, 2 ds), 4.93 (d, ²J_{H,H} = 6.6, H-k, 2 ds), 4.87 (s, H-1'', 1 ds), 4.85 (s, H-1'', 1 ds), 4.61 – 4.55 (m, H-2', 4 ds), 4.44 (s, H-1'', 2 ds), 4.23 – 3.80 (m, H-2'', 4 ds, H-4', 4 ds, H-4'', 4 ds, H-3', 4 ds, H-3'', 4 ds, H-q, 4 ds, H-5, 3 ds), 3.90 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.89 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.89 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.85 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.85 (s, H-i/H-j, 2 ds), 3.78 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.77 (s, H-i/H-j, 1 ds), 3.75 – 3.69 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 1.70 – 1.62 (m, H-r, 4 ds), 1.41 (d, ³J_{H,H} = 6.7, H-b, 1 ds), 1.40 (d, ³J_{H,H} = 6.3, H-b, 1 ds), 1.38 (d, ³J_{H,H} = 5.9, H-b, 1 ds), 1.37 – 1.21 (m, H-s, H-t, H-u, H-v, 4 ds), 1.35 (d, ³J_{H,H} = 6.4, H-b, 1 ds), 0.89 (m, H-w, 4 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 154.2 (C-6), 153.4, 153.0 (C-g), 152.9 (C-p), 150.4 (C-o), 149.9 (C-2), 149.3 (C-4), 147.5, 147.3 (C-f), 140.2, 138.8 (C-d), 139.2 (C-8), 134.4, 133.3 (C-c), 134.3 (C-l), 128.9 (C-m), 121.1 (C-n), 118.4 (C-5), 109.8, 109.1 (C-h), 107.5, 107.4 (C-e), 106.4, 104.8 (C-1''), 86.9 (C-1'), 83.9 (C-4'), 80.7, 80.6 (C-4''), 74.8, 74.3 (C-2''), 74.0 (C-2'), 70.8, 70.6 (C-3', C-3''), 70.7, 69.0 (C-a), 68.5 (C-q), 67.9, 67.6, 67.5, 65.5 (C-5', C-5''), 67.4 (C-k), 56.1, 56.0, 55.9 (C-i, C-j), 31.1, 28.2, 25.0, 22.0 (C-s, C-t, C-u, C-v), 27.9 (C-r), 23.8, 23.6, 23.3, 22.5 (C-b), 13.9 (C-w).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): -10.5 – -11.2 (m, 2P, P_α, P_β, 2 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1017.2890 [M+H]⁺, gef.: 1017.2911 [M+H]⁺.

7.2.6 Photolabile Maskierung des β -Phosphats von ADPR

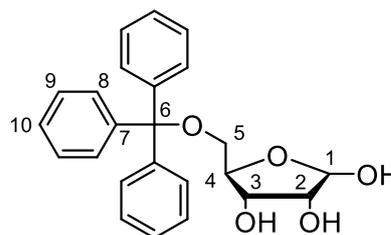
Darstellung von 5-Tritylribose **132**

Es wurden 1.0 Äquiv. D-Ribose **131** (4.920 g, 32.77 mmol) in 15 mL Pyridin suspendiert und mit 1.0 Äquiv. Tritylchlorid (9.116 g, 32.70 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, die organische Phase dreimal mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in 220 mL eines Gemisches aus Petrolether und Dichlormethan (PE/CH₂Cl₂ 10:1 v/v) aufgenommen. Die entstandene Suspension wurde filtriert und der Rückstand in 20 mL Dichlormethan aufgenommen und unter Rühren tropfenweise mit insgesamt 200 mL Petrolether versetzt. Der entstandene farblose Feststoff wurde filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 57% (7.343 g, 18.71 mmol) eines farblosen Feststoffes als Gemisch beider Anomere.

Summenformel: C₂₄H₂₄O₅

Molare Masse: 392.4510 g/mol



132

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CD₃OD, 300 K): 7.51 – 7.47 (m, 6H, H-8, 1 ds), 7.45 – 7.43 (m, 6H, H-8, 1 ds), 7.32 – 7.27 (m, 12H, H-9, 1 ds), 7.25 – 7.20 (m, 6H, H-10, 1 ds), 5.33 (d, ³J_{H,H} = 4.2 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 5.18 (d, ³J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.18 – 4.13 (m, 2H, H-3, 1 ds, H-4, 1 ds), 4.08 (dd, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 4.06 – 4.03 (m, 1H, H-4, 1 ds), 4.00 (dd, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.84 (dd, ³J_{H,H} = 1.4 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.30 – 3.26 (m, 2H, H-5_{a1}, 1 ds, H-5_{a2}), 3.19 (dd, ²J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.10 (dd, ²J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CD₃OD, 300 K): 145.5 (C-7, 2 ds), 130.0 (C-8, 1 ds), 129.9 (C-8, 1 ds), 128.8 (C-9, 1 ds), 128.7 (C-9, 1 ds), 128.1 (C-10, 1 ds), 128.0 (C-10, 1 ds), 103.1 (C-1, 1 ds), 98.1 (C-1, 1 ds), 87.9 (C-6, 1 ds), 87.8 (C-6, 1 ds), 83.8 (C-4, 1 ds), 82.8 (C-4, 1 ds), 77.1 (C-2, 1 ds), 72.8 (C-3, 1 ds), 72.7 (C-2, 1 ds), 72.5 (C-3, 1 ds), 66.6 (C-5, 1 ds), 65.4 (C-5, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3394, 3058, 2954, 2924, 2854, 1490, 1448, 1377, 1264, 1218, 1082, 1032, 1001, 900, 765, 738, 701, 645, 632.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 415.1516 [M+Na]⁺, gef.: 415.1511 [M+Na]⁺.

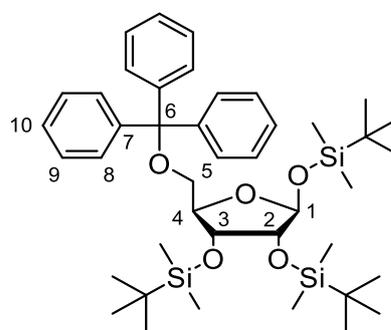
Darstellung von 1,2,3-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)-5-trityl-D-ribose **133**

Es wurden 1.0 Äquiv. 5-Trityl-D-ribose **132** (1.968 g, 5.015 mmol) in 20 mL *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Zur Lösung wurden 5.2 Äquiv. Imidazol (1.774 g, 26.06 mmol) und 5.0 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (3.800 g, 25.21 mmol) gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend durch Überführen in Eiswasser abgebrochen. Die erhaltene Suspension wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mehrmals säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/DCM 3:1 *v/v*) gereinigt.

Ausbeute: 63% (2.317 g, 3.151 mmol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₄₂H₆₆O₅Si₃

Molare Masse: 735.2400 g/mol



133

DC: *R_f*-Wert (PE/DCM 3:1): 0.40.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.53 – 7.49 (m, 6H, H-8), 7.30 – 7.25 (m, 6H, H-9), 7.23 – 7.18 (m, 3H, H-10), 5.18 (d, ³*J*_{H,H} = 0.6 Hz, 1H, H-1), 4.14 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-3), 4.12 – 4.07 (m, 1H, H-4), 3.79 (dd, ³*J*_{H,H} = 3.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.0 Hz, 1H, H-2), 3.33 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-5_a), 3.00 (dd, ²*J*_{H,H} = 10.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-5_b), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.74 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.15 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), -0.05 (s, 3H, SiCH₃), -0.19 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 144.3 (C-7), 129.1 (C-8), 127.8 (C-9), 126.9 (C-10), 102.3 (C-1), 86.5 (C-6), 81.1 (C-4), 78.3 (C-2), 72.1 (C-3), 64.8 (C-5), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -3.9 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2928, 2856, 1491, 1471, 1449, 1361, 1252, 1220, 1156, 1098, 1060, 1032, 1002, 958, 938, 874, 833, 774, 744, 703.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 757.4110 [M+Na]⁺, gef.: 757.4084 [M+Na]⁺.

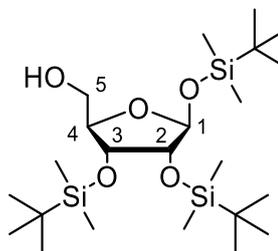
Darstellung von 1,2,3-O,O,O-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribose **126**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1,2,3-O,O,O-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)-5-O-triphenylmethyl- β -D-ribose **133** (2.317 g, 3.151 mmol) in 20 mL Dichlormethan gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Zur Lösung wurden 4.1 Äquiv. Triethylsilan (2.0 mL, 13 mmol) und 2.0 Äquiv. Trifluoressigsäure (0.81 mL, 6.3 mmol) gegeben und die Reaktionslösung für vier Stunden bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung abgebrochen. Die Phasen wurden getrennt, die organische Phase wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat- und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 50:1 \rightarrow PE/EE 25:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 63% (1.023 g, 2.075 mmol) eines farblosen Öls.

Summenformel: C₂₃H₅₂O₅Si₃

Molare Masse: 492.9190 g/mol



126

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 25:1): 0.28.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 5.05 (s, 1H, H-1), 4.38 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-3), 4.02 (dt, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-4), 3.80 (dt, ²*J*_{H,H} = 12.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_a), 3.77 (d, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, H-2), 3.55 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 9.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-5_b), 1.97 (dd, ³*J*_{H,H} = 9.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, OH), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 6H, SiCH₃, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 101.9 (C-1), 82.2 (C-4), 78.6 (C-2), 70.3 (C-3), 60.9 (C-5), 26.1 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.7 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 17.9 (SiC(CH₃)₃), -4.1 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), -5.0 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2929, 2858, 1463, 1361, 1252, 1161, 1085, 1031, 996, 972, 939, 873, 830, 773.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 515.3015 [M+Na]⁺, gef.: 515.3013 [M+Na]⁺.

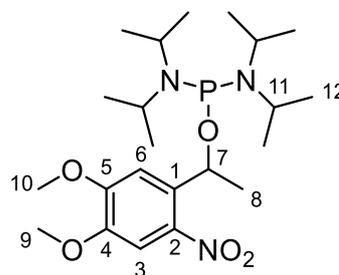
Darstellung von *O*-(1-(4',5'-Dimethoxy-2'-nitrophenyl)ethyl)-bis-(*N,N*-diisopropylamin)-phosphoramidit **128**

Es wurden 1.0 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamin)chlorphosphin **48** (589 mg, 2.21 mmol) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran suspendiert und die Suspension auf 0 °C gekühlt. Es wurden 1.3 Äquiv. 1-(4',5'-Dimethoxy-2'-nitrophenyl)ethanol **57** (668 mg, 2.94 mmol) und 3.3 Äquiv. Triethylamin (1.0 mL, 7.2 mmol), gelöst in 20 mL abs. Tetrahydrofuran, langsam zur gekühlten Lösung getropft. Die Kühlung wurde entfernt und die Reaktion für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und der Rückstand mit Ethylacetat gewaschen. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 5:1 + 5% Et₃N v/v) gereinigt.

Ausbeute: 81% (816 mg, 1.78 mmol) eines gelblichen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₂₂H₄₀N₃O₅P

Molare Masse: 457.5518 g/mol



128

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 5:1 + 5% Et₃N v/v): 0.85.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-3), 7.40 (s, 1H, H-6), 5.52 (dq, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, ³J_{H,P} = 12.4 Hz, 1H, H-7), 3.96 (s, 3H, H-10), 3.93 (s, 3H, H-9), 3.60 – 3.42 (m, 4H, H-11), 1.53 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-8), 1.32 (d, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 6H, H-12), 1.21 (d, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 6H, H-12'), 1.18 (d, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 6H, H-12''), 1.05 (d, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 6H, H-12''').

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.7 (C-5), 147.5 (C-4), 139.4 (C-2), 138.1 (d, ³J_{C,P} = 2.4 Hz, C-1), 109.6 (C-6), 107.4 (C-3), 67.0 (d, ²J_{C,P} = 17.5 Hz, C-7), 56.4 (C-10), 56.3 (C-9), 44.9 (d, ²J_{C,P} = 12.9 Hz, C-11), 44.8 (d, ²J_{C,P} = 13.1 Hz, C-11'), 25.1 ((d, ³J_{C,P} = 3.4 Hz, C-8), 24.5 – 24.3 (m, C-11, C-11', C-11'', C-11''')).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): 112.3 (s).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3368, 2965, 2926, 1636, 1519, 1335, 1271, 1218, 1184, 1022, 953, 794, 771, 737, 703, 642, 624.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 480.2603 [M+Na]⁺, gef.: 480.2588 [M+Na]⁺.

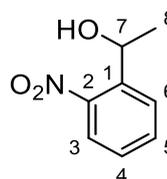
Darstellung von 1-(2-Nitrophenyl)ethanol **129**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2-Nitroacetophenon **130** (3.000 g, 18.18 mmol) in einem Gemisch aus 15 mL Methanol und 15 mL Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Zur Lösung wurden 1.5 Äquiv. Natriumborhydrid (1.019 g, 27.27 mmol) gegeben und die Suspension wurde für 45 Minuten bei 0 °C und anschließend weitere 45 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen, die organische Phase mit Wasser gewaschen und die erhaltene wässrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Produkts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 4:1 v/v).

Ausbeute: 88% (2.661 g, 15.92 mmol) eines gelben Öls.

Summenformel: C₈H₉NO₃

Molare Masse: 167.1640 g/mol



129

DC: R_f-Wert (PE/EE 4:1 v/v): 0.66.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.90 (dd, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-3), 7.84 (dd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-6), 7.65 (dd, ³J_{H,H} = 7.6 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-5), 7.45 – 7.40 (m, 1H, H-4), 5.43 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-7), 1.58 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 148.1 (C-2), 141.0 (C-1), 133.8 (C-5), 128.3 (C-4), 127.7 (C-6), 124.5 (C-3), 65.8 (C-7), 24.3 (C-8).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3364, 2979, 2932, 2871, 1609, 1578, 1518, 1444, 1342, 1297, 1192, 1164, 1146, 1103, 1069, 1006, 959, 897, 854, 787, 767, 744, 705, 674, 614, 564, 540.

MS: (ESI⁺, m/z): ber.: 150.0550 [M-OH]⁺, gef.: 150.0534 [M-OH]⁺.

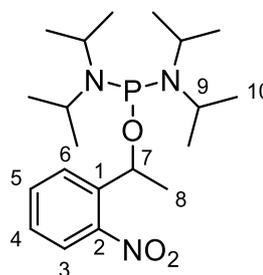
Darstellung von *O*-(1-(2'-Nitrophenyl)ethyl)-bis-(*N,N*-diisopropylamin)-phosphoramidit **127**

Es wurden 1.0 Äquiv. Bis(*N,N*-diisopropylamin)chlorphosphin **48** (667 mg, 2.50 mmol) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran suspendiert und die Suspension auf 0 °C gekühlt. Es wurden 1.2 Äquiv. 1-(2'-Nitrophenyl)ethanol **129** (501 mg, 3.00 mmol) und 3.0 Äquiv. Triethylamin (1.0 mL, 7.5 mmol), gelöst in 20 mL abs. Tetrahydrofuran, langsam zur gekühlten Lösung getropft. Die Kühlung wurde entfernt und die Reaktion für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und der Rückstand mit Ethylacetat gewaschen. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE + 5% Et₃N) gereinigt.

Ausbeute: 85% (842 mg, 2.12 mmol) eines gelblichen Öls.

Summenformel: C₂₀H₃₆N₃O₃P

Molare Masse: 397.4998 g/mol



127

DC: *R_f*-Wert (PE + 5% Et₃N): 0.83.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.90 (dd, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-6), 7.88 (dd, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-3), 7.60 (dt, ³J_{H,H} = 7.6 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-5), 7.39 – 7.34 (m, 1H, H-4), 5.36 (dq, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, ³J_{H,P} = 12.5 Hz, 1H, H-7), 3.56 (dsept, ³J_{H,P} = 10.2 Hz, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 2H, H-9), 3.46 (dsept, ³J_{H,P} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, 2H, H-9'), 1.55 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-8), 1.20 (d, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 6H, H-10), 1.17 (d, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 6H, H-10), 1.12 (d, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 6H, H-10), 1.01 (d, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 6H, H-10).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 147.4 (C-2), 142.2 (d, ³J_{C,P} = 2.3 Hz, C-1), 133.4 (C-5), 128.9 (C-6), 127.6 (C-4), 124.0 (C-3), 67.3 (d, ²J_{C,P} = 19.4 Hz, C-7), 44.9 (d, ²J_{C,P} = 13.1 Hz, C-9), 44.8 (d, ²J_{C,P} = 13.4 Hz, C-9'), 25.4 (d, ³J_{C,P} = 4.0 Hz, C-8), 24.4 (C-10), 24.3 (C-10'), 24.3 (C-10''), 24.3 (C-10''').

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃, 300 K): 114.1 (s).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3339, 2967, 2929, 2872, 2722, 2504, 2356, 1611, 1526, 1460, 1399, 1366, 1345, 1260, 1205, 1155, 1094, 1076, 1056, 1024, 987, 943, 856, 799, 747, 705, 677, 556, 521.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 398.2567 [M+H]⁺, gef.: 398.2552 [M+H]⁺.

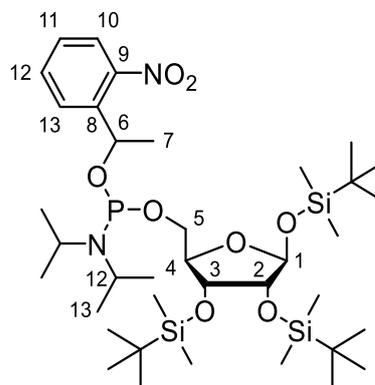
Darstellung von 1,2,3-O,O,O-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl)-(1-(2-nitrobenzyl)ethyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **124**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1,2,3-O,O,O-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribose **126** (253 mg, 514 μ mol) und 1.3 Äquiv. O-(1-(2'-Nitrophenyl)ethyl)-bis-(*N,N*-diisopropylamin)-phosphoramidit **127** (263 mg, 662 μ mol) in abs. Acetonitril gelöst und 1.1 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (109 mg, 564 μ mol) zugegeben. Die Lösung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE + 2% Et₃N) gereinigt.

Ausbeute: 69% (282 mg, 357 μ mol) eines gelblichen Öls.

Summenformel: C₃₇H₇₄NO₆PSi₃

Molare Masse: 744.2288 g/mol



124

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

DC: R_f-Wert (PE + 2% Et₃N): 0.82.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.95 – 7.86 (m, H-10, H-13, 4 ds), 7.64 – 7.34 (m, H-11, 4 ds), 7.40 – 7.34 (m, H-12, 4 ds), 5.61 – 5.49 (m, H-6, 4 ds), 5.13 – 5.09 (m, H-1, 2 ds), 5.08 – 5.05 (m, H-1, 2 ds), 4.14 – 4.04 (m, H-3, 2 ds, H-4, 2 ds), 4.04 – 3.96 (m, H-3, 2 ds, H-4, 2 ds), 3.84 – 3.78 (m, H-2, 2 ds), 3.78 (m, H-2, 2 ds, H-5, 4 ds, H-12, 4 ds), 1.61 – 1.53 (m, H-7, 4 ds), 1.21 – 1.10 (m, H-13, 4 ds), 0.93 – 0.83 (m, SiC(CH₃)₃, 4 ds), 0.13 (m, SiCH₃, 4 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 133.3 (C-11, 4 ds), 128.8 (C-10/C-13, 4 ds), 127.5 (C-12, 4 ds), 124.0 (C-10/C-13, 4 ds), 102.3 (C-1, 2 ds), 102.2 (C-1, 2 ds), 81.8 (C-4, 4 ds), 78.5 (C-2, 4 ds), 73.6 (C-3, 2 ds), 73.5 (C-3, 2 ds), 67.6 (C-6, 4 ds), 65.1 (C-5, 4 ds), 43.0 (C-12, 4 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 25.2 (C-7, 4 ds), 24.7 (C-13, 4 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃), -4.4 (SiCH₃, 4 ds).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃, 300 K): 147.9 (s, 1 ds), 147.7 (s, 1 ds), 147.4 (s, 1 ds), 147.4 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2930, 2888, 2858, 1687, 1652, 1532, 1472, 1463, 1408, 1389, 1362, 1252, 1224, 1187, 161, 1096, 1030, 1005, 972, 940, 901, 874, 837, 778, 732, 670, 650, 562.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 766.4454 [M+Na]⁺, gef.: 766.3921 [M+Na]⁺.

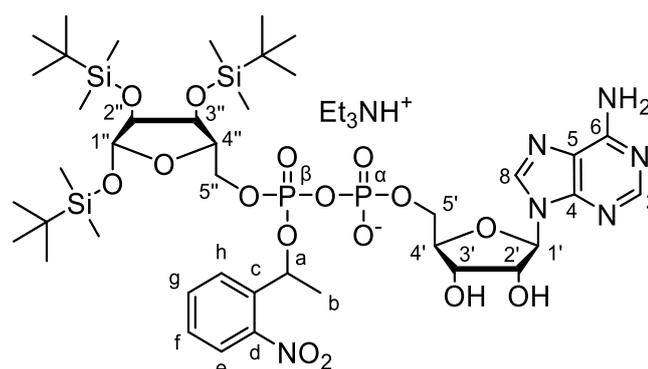
Darstellung von 1''-β-2'',3''-Tri-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-*P*_β-NPE-adenosindi-phosphat-ribose **134**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1,2,3-*O,O,O*-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl)-(1-(2-nitrobenzyl)ethyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **124** (282 mg, 357 μmol), in 5 mL abs *N,N*-Dimethylformamid gelöst, die Lösung auf 40 °C erhitzt und anschließend 1.2 Äquiv. Adenosinmonophosphat (1.5 Äquiv. Et₃NH⁺, 214 mg, 425 μmol) zugegeben. Nachdem das Monophosphat vollständig gelöst vorlag, wurden 1.3 Äquiv. Pyridiniumtrifluoacetat (86 mg, 0.45 mmol) zugegeben, der Ansatz für 15 Minuten bei 40 °C gerührt und anschließend 1.2 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.08 mL, 0.8 mmol) zugegeben und für weitere fünf Minuten bei 30 °C gerührt. Es wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 63% (260 mg, 226 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.0 Äquiv. Triethylammonium erhalten.

Summenformel: C₄₇H₈₇N₇O₁₆P₂Si₃

Molare Masse: 1152.4485 g/mol



134

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CD₃CN, 300 K): 8.33 (s, H-8, 1 ds), 8.32 (s, H-8, 1 ds), 8.29 (s, H-8, 1 ds), 8.27 (s, H-8, 1 ds), 8.19 (s, H-2, 1 ds), 8.18 (s, H-2, 3 ds), 7.97 – 7.89 (m, H-e, 4 ds), 7.88 – 7.81 (m, H-h, 4 ds), 7.74 – 7.63 (m, H-g, 4 ds), 7.53 – 7.35 (m, H-f, 4 ds), 6.33 – 6.08 (m, H-a, 4 ds), 5.98 (d, ³J_{H,H} = 4.2, H-1', 1 ds), 5.97 (d, ³J_{H,H} = 4.3, H-1', 1 ds), 5.95 (d, ³J_{H,H} = 4.0, H-1', 1 ds), 5.94 (d, ³J_{H,H} = 3.5, H-1', 1 ds), 5.08 (d, ³J_{H,H} = 1.0, H-1'', 1 ds), 5.07 (s, H-1'', 1 ds), 5.06 (d, ³J_{H,H} = 0.9, H-1'', 1 ds), 5.04 (s, H-1'', 1 ds), 4.66 – 4.51 (m, H-2', 2 ds), 4.49 (t, ³J_{H,H} = 4.5, H-2', 1 ds), 4.45 (t, ³J_{H,H} = 4.5, H-2', 1 ds), 4.41 – 4.36 (m, H-3', 2 ds), 4.31 (t, ³J_{H,H} = 4.9, H-3', 2 ds), 4.25 – 4.16 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 4.16 – 4.01 (m, H-5', 2 ds, H-5'', 2 ds, H-3'', 4 ds, H-4', 4 ds), 4.01 – 3.87 (m, H-5', 2 ds, H-5'', 2 ds, H-4'', 4 ds), 3.86 – 3.79 (m, H-2'', 4 ds), 2.96 (q, ³J_{H,H} = 7.3, N(CH₂CH₃)₃), 1.67 (d, ³J_{H,H} = 6.4, H-b, 1 ds), 1.66 (d, ³J_{H,H} = 6.1, H-b, 2 ds), 1.65 (d, ³J_{H,H} = 6.1, H-b, 1 ds), 1.16 (t, ³J_{H,H} = 7.4, N(CH₂CH₃)₃), 0.91 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.87 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.86 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.85 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.11 (s, SiCH₃), 0.10 (s, SiCH₃), 0.10 (s, SiCH₃), 0.09 (s, SiCH₃), 0.08 (s, SiCH₃), 0.08 (s, SiCH₃), 0.07 (s, SiCH₃), 0.07 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.05 (s, SiCH₃), 0.03 (s, SiCH₃), 0.02 (s, SiCH₃), -0.02 (s, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CD₃CN, 300 K): 157.1 (C-6), 153.8 (C-2), 150.8 (C-4), 141.3 (C-d), 140.4 (C-8), 139.1 (C-c), 135.0 (C-g), 129.7 (C-f), 129.0 (C-h), 125.3 (C-e), 120.5 (C-5), 103.0 (C-1'''), 89.1 (C-1''), 84.5 (C-4'), 81.3 (C-4''), 78.9 (C-2''), 76.0 (C-2'), 73.3 (C-3''), 73.2 (C-a), 71.5, 71.0 (C-3'), 69.9, 66.3 (C-5', C-5''), 46.8 (N(CH₂CH₃)₃), 26.3, 26.3, 26.3, 26.3, 26.2, 26.1 (SiC(CH₃)₃), 24.8 (C-b), 18.7, 18.7, 18.6, 18.5 (SiC(CH₃)₃), 9.2 (N(CH₂CH₃)₃), -3.8, -3.8, -4.0 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CD₃CN, 300 K): -11.9 – -12.2 (m, 4P, P_α, 4 ds), -12.5 – -13.0 (m, 4P, P_β, 4 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1051.3861 [M+H]⁺, gef.: 1051.3415 [M+H]⁺.

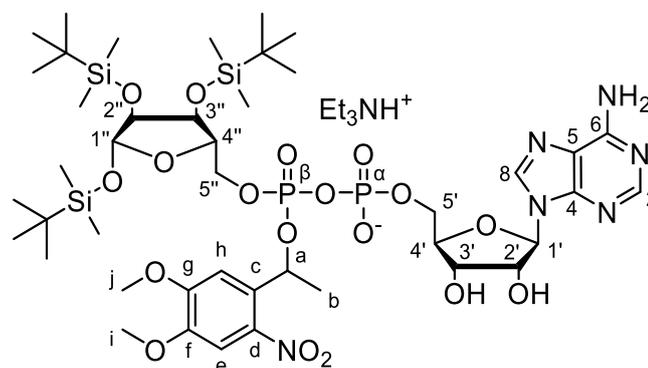
Darstellung von 1''- β -2'',3''-Tri-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl-*P* $_{\beta}$ -MeNV-adenosindi-phosphat-ribose **135**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1,2,3-*O,O,O*-Tri(*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribose **126** (248 mg, 503 μ mol) und 1.2 Äquiv. *O*-(1-(4',5'-Dimethoxy-2'-nitrophenyl)ethyl)-bis-(*N,N*-diisopropylamin)-phosphoramidit **128** (276 mg, 603 μ mol) in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst und 1.0 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (101 mg, 523 μ mol) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 30 Minuten gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE + 2% Et₃N) gereinigt. Das erhaltene Produkt wurde in 5 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst, auf 40 °C erwärmt und 1.5 Äquiv. Triethylammonium-Adenosinmonophosphat (1.5 Äquiv. Et₃NH⁺, 336 mg, 752 μ mol) zugegeben. Der Ansatz wurde bei 40 °C gerührt bis der Feststoff vollständig gelöst war. Anschließend wurden 1.3 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (126 mg, 652 μ mol) zugegeben und der Ansatz für 15 Minuten gerührt. Es wurden 1.8 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.16 mL, 0.88 mmol) zugegeben und für weitere 30 Minuten bei 30 °C gerührt. Es wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 29% (181 mg, 149 μ mol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.0 Äquiv. Triethylammonium erhalten.

Summenformel: C₄₉H₉₁N₇O₁₈P₂Si₃

Molare Masse: 1212.5005 g/mol



135

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD₃CN, 300 K): 8.34 (s, H-8, 1 ds), 8.32 (s, H-8, 1 ds), 8.30 (s, H-8, 1 ds), 8.28 (s, H-8, 1 ds), 8.18 (s, H-2, 2 ds), 8.18 (s, H-2, 2 ds), 7.56 (s, H-e, 1 ds), 7.55 (s, H-e, 1 ds), 7.53 (s, H-e, 1 ds), 7.52 (s, H-e, 1 ds), 7.37 (s, H-h, 1 ds), 7.33 (s, H-h, 1 ds), 7.29 (s, H-h, 1 ds), 7.28 (s, H-h, 1 ds), 6.33 (brs, NH₂), 6.26 – 6.19 (m, H-a, 4 ds), 5.97 (d, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, H-1', 1 ds), 5.96 (d, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, H-1', 1 ds), 5.94 (d, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, H-1', 2 ds), 5.08 (d, ³J_{H,H} = 0.8 Hz, H-1'', 1 ds), 5.07 (s, H-1'', 1 ds), 5.05 (d, ³J_{H,H} = 0.8 Hz, H-1', 1 ds), 5.03 (s, H-1'', 1 ds), 4.72 – 4.59 (brs, OH), 4.54 (t, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, H-2', 1 ds), 4.52 (t, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, H-2', 1 ds), 4.49 (t, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, H-2', 1 ds), 4.45 (t, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, H-2', 1 ds), 4.43 – 4.34 (m, H-3', 2 ds), 4.32 (t, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, H-3', 1 ds), 4.26 (t, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, H-3', 1 ds), 4.24 – 4.19 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 4.17 – 4.10 (m, H-5'/H-5'', 2 ds, H-4', 2 ds, H-3'', 2 ds), 4.10 – 4.01 (m, H-5'/H-5'', 1 ds, H-4', 2 ds, H-3'', 2 ds), 4.01 – 3.92 (m, H-5'/H-5'', 2 ds, H-4'', 2 ds), 3.95 (s, H-j, 1 ds), 3.94 (s, H-j, 1 ds), 3.93 (s, H-j, 1 ds), 3.92 – 3.88 (m, H-5'/H-5'', 1 ds, H-4'', 2 ds), 3.89 (s, H-j, 1 ds), 3.86 – 3.78 (m, H-2'', 4 ds), 3.85 (s, H-i, 1 ds), 3.84 (s, H-i, 1 ds), 3.83 (s, H-i, 1 ds), 3.80 (s, H-i, 1 ds), 2.97 (q, ³J_{H,H} = 7.3, N(CH₂CH₃)₃), 1.68 – 1.62 (m, H-b, 4 ds), 1.15 (t, ³J_{H,H} = 7.4, N(CH₂CH₃)₃), 0.90 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.88 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.88 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.86 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.86 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.84 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.84 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.82 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.81 (s, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.10 (s, SiCH₃), 0.09 (s, SiCH₃), 0.09 (s, SiCH₃), 0.09 (s, SiCH₃), 0.08 (s, SiCH₃), 0.08 (s, SiCH₃), 0.07 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.06 (s, SiCH₃), 0.05 (s, SiCH₃), 0.05 (s, SiCH₃), 0.04 (s, SiCH₃), 0.03 (s, SiCH₃), 0.02 (s, SiCH₃), 0.01 (s, SiCH₃), 0.00 (s, SiCH₃), -0.03 (s, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CD₃CN, 300 K): 156.4 (C-6), 155.0 (C-f), 153.7 (C-2), 150.7 (C-4), 149.1 (C-f), 140.3 (C-d), 140.3 (C-8), 134.1 (C-c), 120.4 (C-5), 110.3, 110.2, 110.1, 110.0 (C-h), 108.5 (C-e), 103.0 (C-1''), 89.1 (C-1'), 84.2, 84.1 (C-4'), 81.2 (C-4''), 78.9 (C-2''), 76.0 (C-2'), 73.5 (C-a), 73.3, 73.1 (C-3''), 71.6 (C-3'), 69.8, 69.1, 66.3 (C-5', C-5''), 57.2, 57.1 (C-j), 56.9, 56.8 (C-i), 46.8 (N(CH₂CH₃)₃), 26.3, 26.2, 26.0 (SiC(CH₃)₃), 24.7 (C-b), 18.7, 18.6, 18.4 (SiC(CH₃)₃), 9.0 (N(CH₂CH₃)₃), -3.8, -3.9, -4.0, -4.1, -4.1, -4.2, -4.2, -4.2, -4.2, -4.5, -4.6, -4.6, -4.7, -4.9, -5.0, -5.0 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CD₃CN, 300 K): -10.8 – -11.2 (m, 1P, P_β, 4 ds), -11.4 – -11.9 (m, 1P, P_α, 4 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1111.4072 [M+H]⁺, gef.: 1111.4066 [M+H]⁺.

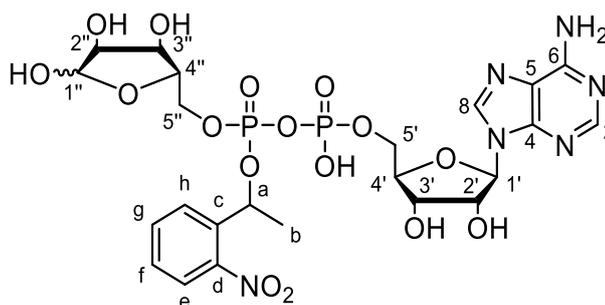
Darstellung von P_{β} -NPE-adenosindiphosphat-ribose 122

Es wurden 1.0 Äquiv. 1''- β -2'',3''-Tri-*O,O*-*tert*-butyldimethylsilyl- P_{β} -NPE-adenosindiphosphat-ribose **134** (150 mg, 143 μ mol) in 18 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 6.9 Äquiv. einer Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid und Essigsäure in Tetrahydrofuran (1 M, 1.05 mL, 1.05 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt, indem der Rückstand vorher in 3 mL TEAA-Puffer (2 M) aufgenommen wurde. Die entsprechenden Fraktionen wurden lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: [12%] (12 mg, 17 μ mol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Das Produkt konnte nur verunreinigt erhalten werden konnte.

Summenformel: C₂₃H₃₀N₆O₁₆P₂

Molare Masse: 708.4665 g/mol



122

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O, 300 K): 8.44 (s, H-8, 2 ds), 8.43 – 8.38 (m, H-8, 2 ds), 8.36 – 8.33 (m, H-2, 4 ds), 8.05 – 8.03 (m, H-h, 2 ds), 7.99 – 7.90 (m, H-h, 2 ds, H-g, 2 ds), 7.83 – 7.78 (m, H-g, 1 ds, H-f, 2 ds), 7.76 – 7.72 (m, H-g, 1 ds, H-f, 1 ds), 7.70 – 7.63 (m, H-f, 1 ds), 7.58 – 7.53 (m, H-e, 2 ds), 7.51 – 7.38 (m, H-e, 2 ds), 6.19 – 6.18 (m, H-a, 2 ds), 6.15 – 6.07 (m, H-a, 2 ds, H-1'', 4 ds), 5.28 (d, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, H-1', 1 ds), 5.26 (d, ³J_{H,H} = 3.7 Hz, H-1', 1 ds), 5.24 – 5.20 (m, H-1', 1 ds), 5.18 – 5.16 (m, H-1', 1 ds), 4.75 – 4.63 (m, H-2'', 4 ds), 4.47 – 4.40 (m, H-3'', 4 ds), 4.37 – 4.29 (m, H-4'', 4 ds), 4.29 – 4.09 (m, H-3', 2 ds, H-4', 2 ds,

H-5'/5'', 4 ds), 4.06 – 4.00 (m, H-3', 1 ds, H-4', 2 ds, H-5'/5'', 4 ds), 3.99 – 3.85 (m, H-2', 4 ds, H-3', 1 ds), 1.69 – 1.63 (m, H-b, 4 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O, 300 K): 156.8 (C-6), 155.0 (C-2), 148.3 (C-4), 135.6 (C-8), 121.46 (C-f), 121.0 (C-5), 116.06 (C-e), 115.68 (C-e), 114.81 (C-g), 111.41 (C-h), 88.1 (C-1'), 83.5 (C-1''), 74.9 (C-a), 70.58 (C-4''), 67.8 (C-4'), 62.0 (C-2'), 61.5 (C-2''), 61.3 (C-1''), 57.1 (C-3'), 55.0 (C-5'/5''), 52.7 (C-5'/5''), 51.1 (C-3''), 10.3 (C-b).

³¹P-NMR: δ [ppm] (242 MHz, D₂O, 300 K): -10.6 – -10.7 (m, 4P, P_α, 4 ds), -12.5 – -12.6 (m, 4P, P_β, 4 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 709.1120 [M+H]⁺, gef.: 709.1285 [M+H]⁺.

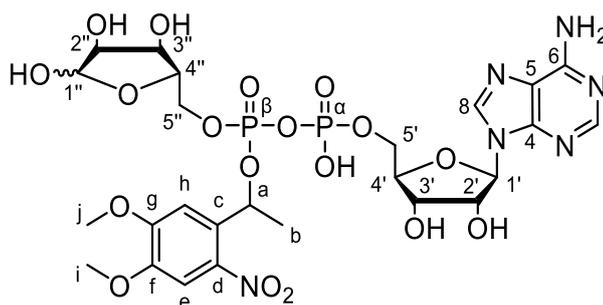
Darstellung von P_β-MeNV-adenosindiphosphat-ribose 123

Es wurden 1.0 Äquiv. 1''-β-2'',3''-Tri-O,O-*tert*-butyldimethylsilyl-P_β-MeNV-adenosindiphosphat-ribose **135** (162 mg, 134 μmol) in 15 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 6.9 Äquiv. einer Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid und Essigsäure in Tetrahydrofuran (1 M, 0.87 mL, 0.87 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt, indem der Rückstand vorher in 3 mL Phosphatpuffer aufgenommen wurde.

Ausbeute: [70%] (95 mg, 94 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von vier Diastereomeren. Zur Ausbeuteberechnung wurden 1.0 Äquiv. Tetrabutylammonium-Ionen herangezogen, da das Produkt nur verunreinigt mit Tetrabutylammonium-Salzen erhalten werden konnte.

Summenformel: C₂₅H₃₄N₆O₁₈P₂

Molare Masse: 768.5185 g/mol



123

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus vier Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ¹³C-Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O, 300 K): 8.62 (s, H-8), 8.38 (s, H-2), 7.62 (s, H-e, 1 ds), 7.61 (s, H-e, 1 ds), 7.29 (s, H-h), 6.16 (d, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, H-1'), 5.49 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-a), 5.37 (d, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, H-1", 1 ds), 5.23 (d, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, H-1", 1 ds), 4.77 (d, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, H-2'), 4.58 – 4.55 (m, H-3'), 4.44 – 4.42 (m, H-4'), 4.33 (t, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, H-3", 1 ds), 4.29 – 4.23 (m, H-5', H-4", 1 ds), 4.21 (t, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, H-3", 1 ds), 4.17 – 4.13 (m, H-2", 1 ds, H-5", 1 ds), 4.11 – 4.09 (m, H-4", 1 ds, H-5", 1 ds), 4.04 – 4.01 (m, H-2", 1 ds), 3.98 (s, H-i/j), 3.90 (s, H-i/j), 1.50 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, H-b).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O, 300 K): 153.3 (C-g), 151.0 (C-6), 148.4 (C-4), 146.9 (C-2), 146.4 (C-f), 141.9 (C-8), 139.3 (C-d), 136.7 (C-c), 118.4 (C-5), 108.5 (C-h), 101.1 (C-1", 1 ds), 96.4 (C-1", 1 ds), 87.7 (C-1'), 84.2 (C-4'), 81.1 (C-4", 1 ds), 81.0 (C-4", 1 ds), 75.1 (C-2", 1 ds), 74.6 (C-2'), 70.7 (C-2", 1 ds), 70.4 (C-3'), 70.3 (C-3", 1 ds), 70.0 (C-3", 1 ds), 66.4 (C-5", 1 ds), 65.5 (C-5'), 65.2 (C-a), 65.0 (C-5", 1 ds), 56.1 (C-i/j), 56.1 (C-i/j), 23.2 (C-b).

³¹P-NMR: δ [ppm] (242 MHz, D₂O, 300 K): -11.0 – -11.2 (m, 4P, P _{α} , 4 ds), -11.3 – -11.4 (m, 4P, P _{β} , 4 ds).

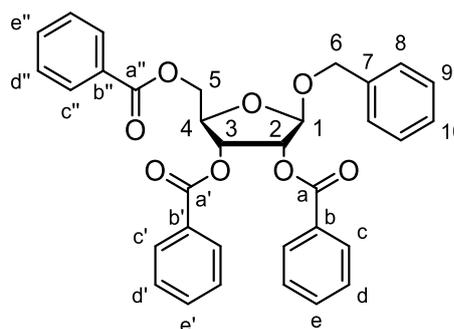
HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 767.1332 [M-H]⁺; gef.: 767.1318 [M-H]⁺.

7.2.7 Synthese von diacetyliertem ADPR

Darstellung von 2,3,5-Tri-O-benzoyl-1-O-benzyl- β -D-ribose 101

Es wurden 1.0 Äquiv. 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **49** (1.089 g, 2.158 mmol) und 1.4 Äquiv. Benzylalkohol (0.33 mL, 3.2 mmol) vorgelegt und in 40 mL abs. Dichlormethan gelöst. Es erfolgte unter Rühren und Kühlung die Zugabe von 0.2 Äquiv. Zinn(IV)chlorid (1 M in Dichlormethan, 0.5 mL, 0.5 mmol). Der Reaktionsansatz wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz erfolgte die Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 3:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 94% (1.126 g, 2.038 mmol) einer farblosen, sirupartigen Flüssigkeit. Das Produkt wurde als reines β -Anomer isoliert.



101

Summenformel: C₃₃H₂₈O₈

Molare Masse: 552.5790 g/mol

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.65.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 8.00 – 7.97 (m, 2H, H-c/H-c'/H-c''), 7.97 – 7.93 (m, 2H, H-c/H-c'/H-c''), 7.83 – 7.80 (m, 2H, H-c/H-c'/H-c''), 7.54 – 7.49 (m, 1H, H-e/H-e'/H-e''), 7.47 – 7.42 (m, 2H, H-e/H-e'/H-e''), 7.39 – 7.33 (m, 2H, H-d/H-d'/H-d''), 7.28 – 7.18 (m, 9H, H-d/H-d'/H-d'', H-8, H-9, H-10), 5.87 (dd, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-3), 5.71 (d, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-2), 5.28 (s, 1H, H-1), 4.76 (d, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, 1H, H-6_a), 4.72 – 4.64 (m, 2H, H-4, H-5_a), 4.54 (d, ²J_{H,H} = 11.9 Hz, 1H, H-6_b), 4.53 – 4.47 (m, 1H, H-5_b).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 166.4 (C-a/C-a'/C-a''), 165.5 (C-a/C-a'/C-a''), 165.4 (C-a/C-a'/C-a''), 136.9 (C-7), 133.6 (C-e/C-e'/C-e''), 133.5 (C-e/C-e'/C-e''), 133.2 (C-e/C-e'/C-e''), 130.0 (C-b/C-b'/C-b''), 129.9 (C-c/C-c'/C-c''), 129.9 (C-c/C-c'/C-c''), 129.8 (C-c/C-c'/C-c''), 129.4 (C-b/C-b'/C-b''), 129.1 (C-b/C-b'/C-b''), 128.6 (C-d, C-d', C-d''), 128.5 (C-8/C-9/C-10), 128.1 (C-8/C-9/C-10), 128.1 (C-8/C-9/C-10), 104.7 (C-1), 79.3 (C-4), 75.8 (C-2), 72.6 (C-3), 69.8 (C-6), 64.9 (C-5).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2957, 2924, 2871, 2855, 1722, 1602, 1452, 1378, 1315, 1260, 1177, 1096, 1068, 1025, 967, 940, 861, 802, 737, 706.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 575.1676 [M+Na]⁺, gef.: 575.1676 [M+Na]⁺.

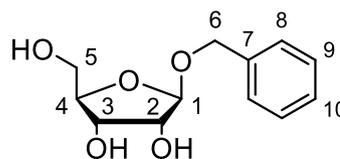
Darstellung von 1-O-Benzyl-β-D-ribose 102

Es wurden 1.0 Äquiv. 2,3,5-Tri-O-benzoyl-1-O-benzyl-β-D-ribose **101** (1.126 g, 2.038 mmol) in 20 mL Methanol suspendiert und mit 0.1 mL ges. methanolischer Natriummethanolat-Lösung versetzt. Der Ansatz wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend durch Zugabe von Dowex® 50WX8 neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde mit Wasser und Petrolether versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Petrolether gewaschen. Das Lösungsmittel der wässrigen Phase wurde entfernt und das Produkt ohne weitere Reinigung erhalten.

Ausbeute: 94% (1.126 g, 2.038 mmol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₂H₁₆O₅

Molare Masse: 240.2550 g/mol



102

DC: *R_f*-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.43.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.39 – 7.26 (m, 5H, H-8, H-9, H-10), 5.03 (d, ³*J*_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, 2-OH), 4.82 – 4.81 (m, 2H, H-1, 3-OH), 4.68 (d, ²*J*_{H,H} = 11.5 Hz, 1H, H-6_a), 4.65 (t, ³*J*_{H,H} = 5.7 Hz, 1H, 5-OH), 4.40 (d, ²*J*_{H,H} = 11.8 Hz, 1H, H-6_a), 3.93 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.9 Hz, 1H, H-5_a), 3.91 (ddd, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-3), 3.81 – 3.76 (m, 2H, H-2, H-4), 3.56 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-5_a).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 138.0 (C-7), 128.2 (C-9), 127.7 (C-8), 127.4 (C-10), 106.1 (C-1), 83.7 (C-4), 74.4 (C-2), 71.0 (C-3), 68.0 (C-6), 63.2 (C-5).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3354, 3088, 3066, 3033, 2954, 2908, 1497, 1454, 1393, 1371, 1357, 1335, 1393, 1261, 1222, 1209, 1189, 1141, 1107, 1089, 1074, 1016, 950, 890, 832, 785, 733, 694, 659, 628, 592, 538.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 263.0890 [M+Na]⁺, gef.: 263.0888 [M+Na]⁺.

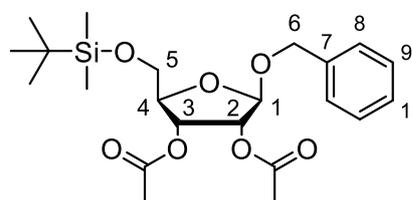
Darstellung von 2,3-Di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-5-O-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-ribose **103**

Es wurden 1.0 Äquiv. 1-O-Benzyl-β-D-ribose **102** (456 mg, 1.90 mmol) in 10 mL abs. Pyridin gelöst und mit 2.4 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (683 mg, 4.53 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 8.4 Äquiv. Essigsäureanhydrid (1.5 mL, 16 mmol) und der Ansatz wurde für drei Tage gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand jeweils dreimal mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert, in Dichlormethan aufgenommen und mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 4:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 83% (690 mg, 1.57 mmol) eines farblosen Öls.

Summenformel: C₂₂H₃₄O₇Si

Molare Masse: 438.2074 g/mol



103

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 4:1 v/v): 0.54.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.37 – 7.27 (m, 5H, H-8, H-9, H-10), 5.39 (dd, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-3), 5.31 – 5.29 (m, 1H, H-2), 5.07 (d, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-1), 4.76 (d, ²J_{H,H} = 11.9 Hz, 1H, H-6_a), 4.53 (d, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, 1H, H-6_b), 4.18 (d, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, H-4), 3.77 (dd, ²J_{H,H} = 10.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.73 (dd, ²J_{H,H} = 10.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-5_b), 2.08 (s, 3H, Ac), 2.03 (s, 3H, Ac), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.05 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 169.8 (C=O), 137.3 (C-7), 128.5 (C-9), 128.0 (C-8), 127.9 (C-10), 104.3 (C-1), 81.6 (C-4), 75.2 (C-2), 72.4 (C-3), 69.4 (C-6), 64.6 (C-5), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 20.8 (COCH₃), 20.7 (COCH₃), 18.4 (SiC(CH₃)₃), -5.3 (SiCH₃), -5.4 (SiCH₃).

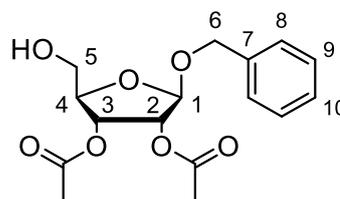
IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2928, 2857, 1750, 1497, 1462, 1370, 1240, 1215, 1068, 1020, 960, 937, 898, 834, 776, 735, 697, 667, 627, 601.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 461.1966 [M+Na]⁺, gef.: 461.1958 [M+Na]⁺.

Darstellung von 2,3-Di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-β-D-ribose **104**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2,3-Di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-5-O-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-ribose **104** (675 mg, 1.54 mmol) in 20 mL Dichlormethan gelöst und mit 3.0 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 3.0 mL, 3.2 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Umsatz gerührt. Überschüssige Fluorid-Reagenzien wurden anschließend durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 85% (422 mg, 1.30 mmol) eines leicht bräunlichen Öls.



104

Summenformel: C₁₆H₂₀O₇

Molare Masse: 324.3290 g/mol

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.44.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.38 – 7.30 (m, 5H, H-8, H-9, H-10), 5.41 (dd, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-3), 5.32 (d, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-2), 5.11 (s, 1H, H-1), 4.76 (d, ²J_{H,H} = 11.9 Hz, 1H, H-6_a), 4.60 (d, ²J_{H,H} = 11.9 Hz, 1H, H-6_b), 4.23 (dd, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-4), 3.80 (dd, ²J_{H,H} = 12.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.65 (dd, ²J_{H,H} = 12.2 Hz, ³J_{H,H} = 4.3 Hz, 1H, H-5_b), 2.10 (s, 3H, Ac), 2.06 (s, 3H, Ac).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 170.2 (C=O), 169.8 (C=O), 136.9 (C-7), 128.7 (C-9), 128.3 (C-10), 128.1 (C-8), 104.8 (C-1), 82.6 (C-4), 75.6 (C-2), 71.4 (C-3), 70.4 (C-6), 63.1 (C-5), 20.8 (COCH₃), 20.7 (COCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3479, 2956, 2925, 1746, 1455, 1433, 1372, 1240, 1217, 1068, 1025, 971, 951, 899, 740, 700, 604.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 347.1101 [M+Na]⁺, gef.: 347.1112 [M+Na]⁺.

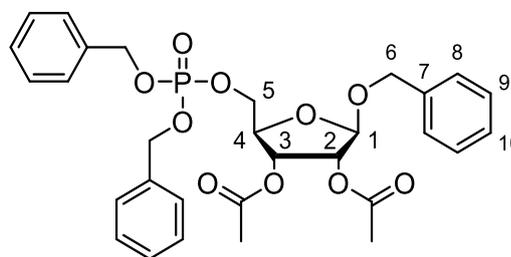
Darstellung von 5-(Dibenzylphosphoryl)-2,3-di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-β-D-ribose **105**

Es wurden 1.0 Äquiv. 2,3-Di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-β-D-ribose **104** (414 mg, 1.28 mmol) und 1.2 Äquiv. Dibenzyl-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit (0.52 mL, 1.5 mmol) in 20 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 1.2 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (287 mg, 1.49 mmol) versetzt. Die Lösung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 1.2 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.28 mL, 1.5 mmol) versetzt. Nach weiteren 30 Minuten Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen, mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 74% (673 mg, 1.15 mmol) eines farblosen Öls.

Summenformel: C₃₀H₃₃O₁₀P

Molare Masse: 584.5578 g/mol



105

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.29.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.35 – 7.22 (m, 15H, H-Ph, H-8, H-9, H-10), 5.35 (dd, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-3), 5.28 (d, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-2), 5.04 (s, 1H, H-1), 5.02 (d, ³J_{H,P} = 8.1 Hz, 1H, CH₂Ph), 5.01 (d, ³J_{H,P} = 7.9 Hz, 1H, CH₂Ph), 4.71 (d, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, 1H, H-6_a), 4.45 (d, ²J_{H,H} = 11.9 Hz, 1H, H-6_b), 4.32 – 4.26 (m, 1H, H-4), 4.20 – 4.14 (m, 1H, H-5_a), 4.13 – 4.06 (m, 1H, H-5_b), 2.07 (s, 3H, Ac), 1.99 (s, 3H, Ac).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 169.7 (C=O), 169.7 (C=O), 136.9 (C-Ar), 135.9 (C-Ar), 135.8 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 128.6 (C-Ar), 128.1 (C-Ar), 128.1 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 104.3 (C-1), 79.4 (d, ³J_{C,P} = 8.1 Hz, C-4), 74.9 (C-2), 71.5 (C-3), 69.6 (d, ²J_{C,P} = 5.6 Hz, CH₂Ph), 69.5 (C-6), 67.9 (d, ²J_{C,P} = 5.5 Hz, C-5), 20.7 (COCH₃), 20.6 (COCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): -1.1 (s).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3064, 3033, 2958, 1750, 1498, 1456, 1373, 1240, 1216, 1068, 1010, 897, 802, 738, 698, 601.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 607.1704 [M+Na]⁺, gef.: 607.1685 [M+Na]⁺.

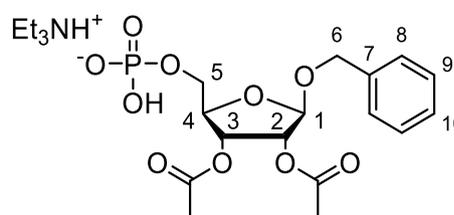
Darstellung von 2,3-Di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-β-D-ribose-5-phosphat 100

Es wurden 1.0 Äquiv. 5-(Dibenzylphosphoryl)-2,3-di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-β-D-ribose **105** (665 mg, 958 μmol) und 2.0 Äquiv. Triethylamin (0.27 mL, 1.9 mmol) in 10 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 10 Gew.% Palladium/Aktivkohle (10%, 73 mg) versetzt. Die Atmosphäre wurde mit Wasserstoff gesättigt und die Reaktion über Nacht unter Wasserstoff-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit Acetonitril verdünnt, über Celite® 545 filtriert, mit Wasser und Acetonitril gewaschen und die Lösung gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Acetonitril aufgenommen, mehrmals über Spritzenfilter filtriert und erneut gefriergetrocknet.

Ausbeute: 91% (491 mg, 873 μmol) eines leicht bräunlichen Öls. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.6 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₂H₃₆NO₁₀P

Molare Masse: 505.5008 g/mol



100

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CD₃CN, 300 K): 7.42 – 7.27 (m, 5H, H-8, H-9, H-10), 5.23 (dd, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-3), 5.17 (dd, ³J_{H,H} = 1.0 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-2), 5.06 (d, ³J_{H,H} = 0.9 Hz, 1H, H-1), 4.77 (d, ²J_{H,H} = 11.6 Hz, 1H, H-6_a), 4.48 (d, ²J_{H,H} = 11.4 Hz, 1H, H-6_b), 4.26 (dd, ³J_{H,H} = 4.3 Hz, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 1H, H-4), 3.98 – 3.84 (m, 2H, H-5), 2.80 (q, ³J_{H,H} = 7.2, N(CH₂CH₃)₃), 2.03 (s, 3H, Ac), 2.00 (s, 3H, Ac), 1.13 (t, ³J_{H,H} = 7.3, N(CH₂CH₃)₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CD₃CN, 300 K): 170.9 (C=O), 170.7 (C=O), 138.6 (C-7), 129.4 (C-9), 129.2 (C-8), 128.7 (C-10), 105.3 (C-1), 81.4 (d, ³J_{C,P} = 8.4 Hz, C-4), 75.5 (C-2), 72.7 (C-3), 70.0 (C-6), 66.2 (d, ²J_{C,P} = 5.0 Hz, C-5), 46.5 (N(CH₂CH₃)₃), 20.8 (COCH₃), 20.8 (COCH₃), 9.9 (N(CH₂CH₃)₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CD₃CN, 300 K): 2.2 (s).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 427.0765 [M+Na]⁺, gef.: 427.0718 [M+Na]⁺.

Darstellung von 2'',3''-Diacetyl-1''-O-β-benzyladenosindiphosphat-ribose 98

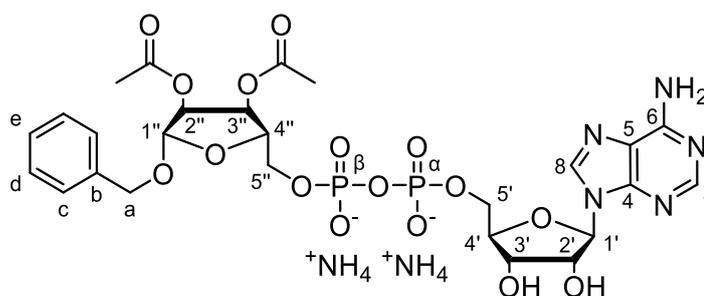
Es wurden 2.0 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (171 mg, 437 μmol) vorgelegt und in 5 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 29.8 Äquiv. Triethylamin (0.91 mL, 6.5 mmol) und 29.9 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.91 mL, 6.5 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 5 mL abs. Acetonitril gelöst. Der Ansatz wurde auf 0 °C gekühlt, erneut 32.1 Äquiv. Triethylamin (0.98 mL, 7.0 mmol) und 12.0 Äquiv. Methylimidazol (0.21 mL, 2.6 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. 2,3-Di-O,O-acetyl-1-O-benzyl-β-D-ribose-5-phosphat **100** (1.6 Äquiv. Et₃NH⁺, 123 mg, 219 μmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung erneut via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 31% (52 mg, 68 μmol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₂₆H₃₉N₇O₁₆P₂

Molare Masse: 767.5785 g/mol



98

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 8.45 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.40 – 7.21 (m, 13H, H-c, H-d, H-e, NH₄⁺), 5.91 (d, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-1'), 5.17 (dd, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-3''), 5.13 (dd, ³J_{H,H} = 0.8 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-2''), 5.07 (d, ³J_{H,H} = 0.6 Hz, 1H, H-1''), 4.72 (d, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, 1H, H-a_a), 4.48 – 4.43 (m, 1H, H-2'), 4.46 (d, ²J_{H,H} = 11.6 Hz, 1H, H-a_b), 4.33 (t, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-3'), 4.25 (dt, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1H, H-4''), 4.07 – 3.99 (m, 3H, H-4', H-5'), 3.99 – 3.91 (m, 1H, H-5''_a), 3.91 – 3.84 (m, 1H, H-5''_b), 2.05 (s, 3H, Ac), 2.00 (s, 3H, Ac).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 169.6 (C=O), 169.4 (C=O), 155.9 (C-6), 152.5 (C-2), 149.3 (C-4), 139.2 (C-8), 137.2 (C-b), 128.3 (C-d), 128.1 (C-c), 127.6 (C-e), 118.8 (C-5), 103.6 (C-1''), 87.2 (C-1'), 83.0 (C-4'), 79.5 (C-4''), 74.0 (C-2''), 73.9 (C-2'), 71.5 (C-3''), 69.6 (C-3'), 68.5 (C-a), 65.9 (C-5''), 64.2 (C-5'), 20.3 (COCH₃), 20.3 (COCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (242 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): -11.6 (d, ²J_{P,P} = 20.9 Hz, P_α/P_β), -11.8 (d, ²J_{P,P} = 21.5 Hz, P_α/P_β).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 734.1470 [M+H]⁺, gef.: 734.1525 [M+H]⁺.

Darstellung von 2'',3''-Diacetyl-adenosindiphosphat-ribose 72

Synthese 1:

Es wurden 1.0 Äquiv. 2'',3''-Diacetyl-1''-O- β -(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose **65** (52 mg, 62 μ mol) in 5 mL Phosphatpuffer gelöst und für eine Minute mit einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt und anschließend das Reaktionsgefäß auf 0 °C gekühlt. Dieser Vorgang wurde wiederholt, bis die Reaktionslösung für insgesamt zehn Minuten bestrahlt wurde. Die erhaltene Reaktionslösung wurde mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt.

Ausbeute: 38% (15 mg, 23 μ mol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.

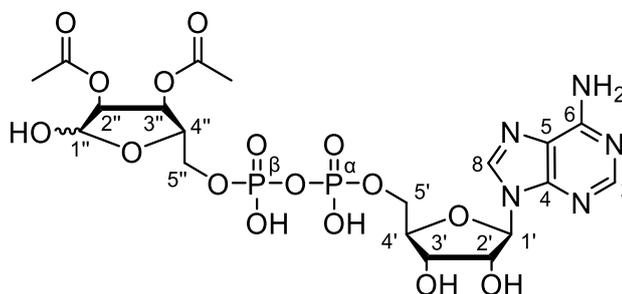
Synthese 2:

Es wurden 1.0 Äquiv. 2'',3''-Diacetyl-1''-O- β -(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose **98** (72 mg, 94 μ mol) in 3 mL Phosphatpuffer gelöst, mit 10 Gew.% Palladium auf Aktivkohle (10%) versetzt und anschließend für 24 Stunden Wasserstoff in die Suspension eingeleitet. Die Reaktionslösung wurde filtriert und mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt.

Ausbeute: 28% (17 mg, 26 μ mol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₉H₂₇N₅O₁₆P₂

Molare Masse: 643.3915 g/mol



72

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, D₂O, 300 K): 8.53 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.52 (s, 1H, H-8, 1 ds), 8.26 (s, 1H, H-2, 1 ds), 6.14 (d, ³J_{H,H} = 5.7 Hz, 2H, H-1', 2 ds), 5.57 (d, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-1'', 1 ds), 5.35 (d, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-1'', 1 ds), 5.28 (t, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-3'', 1 ds), 5.25 (dd, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, ³J_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-3'', 1 ds), 5.15 (dd, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.6 Hz, 1H, H-2'', 1 ds), 5.05 (dd, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-2'', 1 ds), 4.77 – 4.73 (m, H-2', 2 ds), 4.55 – 4.52 (m, H-3', 2 ds), 4.42 – 4.38 (m, H-4', 2 ds, H-4'', 1 ds), 4.28 – 4.21 (m, H-4'', 1 ds, H-5', 1 ds), 4.15 – 4.10 (m, H-5'', 1 ds), 4.10 – 3.99 (m, H-5', 1 ds, H-5'', 1 ds), 2.12 (s, 3H, COCH₃), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.09 (s, 3H, COCH₃), 2.06 (s, 3H, COCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, D₂O, 300 K): 173.0 (C=O), 172.7 (C=O), 172.7 (C=O), 172.4 (C=O), 155.4 (C-6, 2 ds), 152.5 (C-2, 2 ds), 149.1 (C-4, 2 ds), 139.9 (C-8, 2 ds), 118.6 (C-5, 2 ds), 99.3 (C-1'', 1 ds), 94.4 (C-1'', 1 ds), 87.0 (C-1', 2 ds), 83.8 (C-4', 2 ds), 80.7 (C-4'', 1 ds), 79.2 (C-4'', 1 ds), 75.3 (C-2'', 1 ds), 74.3 (C-2', 2 ds), 71.3 (C-3'', 1 ds), 71.2 (C-2'', 1 ds), 71.0 (C-3'', 1 ds), 70.2 (C-3', 2 ds), 66.0 (C-5'', 1 ds), 65.5 (C-5'', 1 ds), 65.1 (C-5', 2 ds), 20.1 (COCH₃), 19.9 (COCH₃), 19.9 (COCH₃), 19.8 (COCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, D₂O, 300 K): -10.1 (s, P _{α} , P _{β}).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 642.0855 [M+H]⁺, gef.: 642.0673 [M+H]⁺.

7.2.8 Synthese von bioreversiblen *caged* ADPR-Derivaten

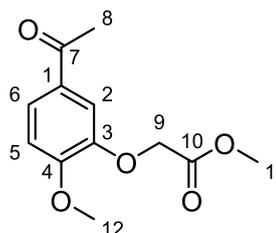
Darstellung von Methyl-2-(5-acetyl-2-methoxyphenoxy)acetat 141

Es wurden 2.1 Äquiv. wasserfreies Kaliumcarbonat (1.813 g, 13.12 mmol) vorgelegt, mit 10 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 1.0 Äquiv. 3-Hydroxy-4-methoxyacetophenon **139** (1.062 g, 6.391 mmol) zugegeben. Der Ansatz wurde für 15 Minuten bei 0 °C suspendiert, dann 2.0 Äquiv. Methylbromacetat (1.2 mL, 13 mmol) zugetropft und anschließend für sechs Stunden bei 40 °C erhitzt. Zum Beenden der Reaktion wurden 10 mL Natronlauge (1 M) zugegeben und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 90% (1.375 g, 5.772 mmol) eines farblosen amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₂H₁₄O₅

Molare Masse: 238.2390 g/mol



141

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.31.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.63 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-6), 7.46 (d, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2), 6.92 (d, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz, 1H, H-5), 4.75 (s, 2H, H-9), 3.95 (s, 3H, H-12), 3.80 (s, 3H, H-11), 2.54 (s, 3H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 196.6 (C-7), 169.1 (C-10), 153.9 (C-4), 147.3 (C-3), 130.5 (C-1), 124.6 (C-6), 112.8 (C-2), 110.9 (C-5), 66.1 (C-9), 56.3 (C-12), 52.4 (C-11), 26.3 (C-8).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2955, 2924, 2869, 2852, 1757, 1672, 1587, 1586, 1510, 1457, 1424, 1377, 1360, 1265, 1202, 1176, 1150, 1136, 1083, 1020, 973, 879, 813, 786, 768, 642.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 239.0914 [M+H]⁺, gef.: 239.0915 [M+H]⁺.

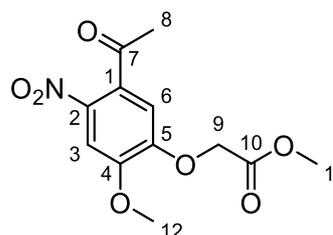
Darstellung von Methyl-[(5-ethanoyl-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]acetat **142**

Es wurden 1.3 Äquiv. Kaliumnitrat (552 mg, 5.46 mmol) vorgelegt, in 7 mL Trifluoressigsäure suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Zu der gekühlten Suspension wurden 1.0 Äquiv. Methyl-2-(5-acetyl-2-methoxyphenoxy)acetat **141** (1.003 g, 421.0 mmol), gelöst in 6 mL Trifluoressigsäure, getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Kühlung entfernt und der Ansatz für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Ethylacetat und Wasser aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden dreimal mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 44% (0.525 g, 1.85 mmol) eines leicht gelblichen amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₂H₁₃NO₇

Molare Masse: 283.2360 g/mol



142

DC: R_f -Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.30.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.63 (s, 1H, H-3), 6.69 (s, 1H, H-6), 4.79 (s, 2H, H-9), 3.99 (s, 3H, H-12), 3.82 (s, 3H, H-11), 2.48 (s, 3H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 199.6 (C-7), 168.0 (C-10), 151.9 (C-5), 150.3 (C-4), 139.9 (C-2), 132.2 (C-1), 111.1 (C-6), 107.7 (C-3), 66.2 (C-9), 56.8 (C-12), 52.8 (C-11), 30.5 (C-8).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2955, 2924, 2852, 1756, 1704, 1576, 1520, 1439, 1399, 1337, 1289, 1273, 1204, 1179, 1117, 1071, 1039, 974, 957, 871, 799, 791, 759.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 284.0765 [M+H]⁺, gef.: 284.0766 [M+H]⁺.

Darstellung von Methyl-[(5-(1-hydroxyethyl)-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]acetat **140**

Synthese 1:

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-[(5-ethanoyl-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]acetat **142** (51 mg, 0.18 mmol) in 5 mL Methanol suspendiert. Es erfolgte die Zugabe von Dichlormethan, bis das Edukt vollständig gelöst war. Anschließend wurden 1.5 Äquiv. Natriumborhydrid (10 mg, 0.26 mmol) zugegeben und der Ansatz bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Umsatz gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Ethylacetat verdünnt, einmal mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1.5).

Ausbeute: 58% (30 mg, 0.11 mmol) eines leicht gelblichen Feststoffes.

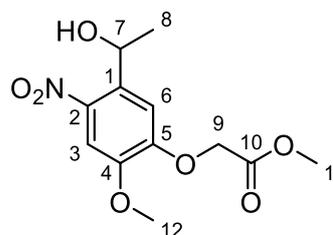
Syntheseversuch 2:

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-[(5-ethanoyl-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]acetat **142** (740 mg, 2.61 mmol) in 20 mL Methanol suspendiert. Dazu wurde eine Lösung aus 8.2 Äquiv. Natriumcyanoborhydrid (1.350 g, 21.48 mmol) in 3.3 mL Wasser gegeben und zügig 4.0 mL Eisessig zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, Dichlormethan zugegeben und die organische Phase abschließend mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen.

Es konnte kein Umsatz des Edukts beobachtet werden.

Summenformel: C₁₂H₁₅NO₇

Molare Masse: 285.2520 g/mol



140

DC: R_f-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.50.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-3), 7.21 (s, 1H, H-6), 5.50 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-7), 4.81 (s, 2H, H-9), 3.94 (s, 3H, C-12), 3.80 (s, 3H, C-11), 1.50 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 168.4 (C-10), 151.8 (C-5), 148.2 (C-4), 140.8 (C-2), 136.5 (C-1), 110.7 (C-6), 108.4 (C-3), 66.0 (C-9), 65.7 (C-7), 56.6 (C-12), 52.6 (C-11), 24.4 (C-8).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958, 2847, 1712, 1506, 1335, 1310, 1266, 1212, 1189, 1171, 1097, 1066, 1030, 1015, 1002, 979, 879, 865, 801.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 268.0816 [M-H₂O+H]⁺, gef.: 268.0796 [M-H₂O +H]⁺.

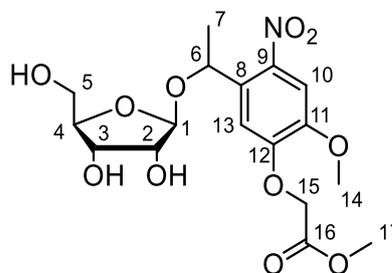
Darstellung von Methyl-2-(5-(1-(ribofuranyl)ethyl)2-methoxy-4-nitrophenoxy)acetat 144

Es wurden 1.0 Äquiv. 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosid **49** (850 mg, 1.68 mmol) und 1.2 Äquiv. Methyl-[(5-(1-hydroxyethyl)-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]acetat **140** (591 mg, 2.07 mmol) in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zur gekühlten Lösung wurden 0.1 Äquiv. Zinn(IV)chlorid (1 M in Dichlormethan, 0.25 mL, 0.25 mmol) getropft und der Reaktionsansatz für 30 Minuten bei 0 °C gerührt. Die Kühlung wurde entfernt und weitere 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 *v/v*) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde in 20 mL abs. Methanol suspendiert, mit Natriummethanolat (480 mg, 8.89 mmol) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde durch Zugabe von Dowex® 50WX8 neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 *v/v*) gereinigt.

Ausbeute: 35% (246 mg, 589 μmol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₁₇H₂₃NO₁₁

Molare Masse: 417.3670 g/mol



144

DC: *R_f*-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 *v/v*): 0.45.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.60 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.09 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.05 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.26 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.23 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.05 (d, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, -OH, 1 ds), 4.99 (d, ²J_{H,H} = 18.4 Hz, 2H, H-15, 1 ds), 4.99 (d, ²J_{H,H} = 17.6 Hz, 2H, H-15, 1 ds), 4.89 (d, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, -OH, 1 ds), 4.87 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.84 (d, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, 1H, -OH, 1 ds), 4.78 (d, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, -OH, 1 ds), 4.69 (d, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, -OH, 1 ds), 4.40 – 4.38 (m, 2H, H-1, 1 ds, -OH, 1 ds), 3.93 – 3.88 (m, 1H, H-2, 1 ds), 3.88 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.87 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.78 – 3.77 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-3, 1 ds), 3.75 – 3.72 (m, 2H, H-3, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.73 (s, 3H, H-17, 1 ds), 3.72 (s, 3H, H-17, 1 ds), 3.67 – 3.65 (m, 1H, H-4, 1 ds), 3.56 – 3.53 (m, 1H, H-5, 1 ds), 3.42 – 3.38 (m, 1H, H-5, 1 ds), 3.31 – 3.28 (m, 1H, H-5, 1 ds), 3.04 – 3.00 (m, 1H, H-5, 1 ds), 1.38 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.37 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 168.5 (C-16, 2 ds), 151.4 (C-12, 1 ds), 151.1 (C-12, 1 ds), 147.7 (C-11, 1 ds), 147.3 (C-11, 1 ds), 141.0 (C-9, 1 ds), 139.6 (C-9, 1 ds), 134.4 (C-8, 1 ds), 133.0 (C-8, 1 ds), 111.1 (C-13, 1 ds), 110.4 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 107.8 (C-10, 1 ds), 105.7 (C-1, 1 ds), 104.4 (C-1, 1 ds), 83.8 (C-4, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 74.7 (C-3, 1 ds), 74.3 (C-3, 1 ds), 71.1 (C-2, 1 ds), 71.0 (C-2, 1 ds), 69.6 (C-6, 1 ds), 68.5 (C-6, 1 ds), 65.2 (C-15, 2 ds), 63.2 (C-5, 1 ds), 62.9 (C-5, 1 ds), 56.2 (C-14, 1 ds), 56.1 (C-14, 1 ds), 52.1 (C-17, 1 ds), 52.0 (C-17, 1 ds), 23.5 (C-7, 1 ds), 22.3 (C-7, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3423, 2954, 2927, 1757, 1692, 1581, 1519, 1440, 1396, 1336, 1269, 1207, 1172, 1084, 1030, 975, 877, 796, 759, 733.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 440.1163 [M+Na]⁺, gef.: 440.1166 [M+Na]⁺.

Darstellung von Methyl-2-(5-(1-(2,3,5,tri-*tert*-butyldimethylsilylribofuranyl)ethyl)2-methoxy-4-nitrophenoxy)acetat **145**

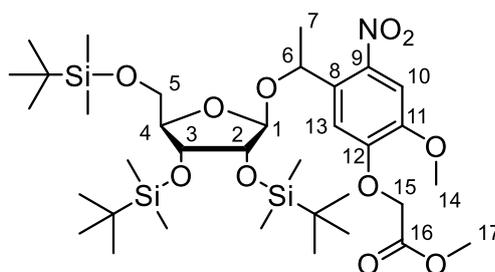
Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-2-(5-(1-(ribofuranyl)ethyl)2-methoxy-4-nitrophenoxy)acetat **144** (152 mg, 364 μ mol), 7.1 Äquiv. Imidazol (177 mg, 2.60 mmol) und 6.5 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (355 mg, 2.36 mmol) vorgelegt und in 5 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser sowie ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 7:1 v/v).

Ausbeute: 84% (233 mg, 307 μ mol) eines gelben, amorphen Feststoffes als ein Gemisch aus zwei Diastereomeren.

DC: R_f -Wert (PE/EE 7:1 v/v): 0.55, 0.44.

Summenformel: C₃₅H₆₅NO₁₁Si₃

Molare Masse: 760.1560 g/mol



145

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.60 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.20 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.07 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.49 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.42 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.84 (d, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.80 (d, ²J_{H,H} = 16.1 Hz, 1H, H-15, 1 ds), 4.79 (d, ²J_{H,H} = 15.6 Hz, 1H, H-15, 1 ds), 4.75 (d, ²J_{H,H} = 15.7 Hz, 1H, H-15, 1 ds), 4.73 (d, ²J_{H,H} = 15.8 Hz, 1H, H-15, 1 ds), 4.52 (d, ³J_{H,H} = 1.0 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.15 (dd, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.07 (dd, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.95 – 3.91 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.94 (s, 6H, H-14, 2 ds), 3.90 – 3.86 (m, 1H, H-2, 1 ds), 3.86 – 3.80 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-5, 1 ds), 3.83 (s, 3H, H-17, 1 ds), 3.81 (s, 3H, H-17, 1 ds), 3.63 (dd, ²J_{H,H} = 11.2 Hz, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.61 (dd, ²J_{H,H} = 11.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.47 (dd, ²J_{H,H} = 11.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 1.48 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.44 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.94 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), 0.02 (s, 9H, SiCH₃), -0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.11 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 168.3 (C-16, 1 ds), 168.2 (C-16, 1 ds), 151.6 (C-12, 1 ds), 151.5 (C-12, 1 ds), 148.4 (C-11, 1 ds), 148.1 (C-11, 1 ds), 142.1 (C-9, 1 ds), 140.5 (C-9, 1 ds), 135.7 (C-8, 1 ds), 134.3 (C-8, 1 ds), 111.8 (C-13, 1 ds), 111.7 (C-13, 1 ds), 108.4 (C-10, 1 ds), 108.3 (C-10, 1 ds), 106.0 (C-1, 1 ds), 104.8 (C-1, 1 ds), 83.9 (C-4, 1 ds), 83.0 (C-4, 1 ds), 76.7 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.6 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.4 (C-6, 1 ds), 66.3 (C-15, 1 ds), 66.0 (C-15, 1 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.6 (C-14, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 52.6 (C-17, 1 ds), 52.5 (C-17, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (SiC(CH₃)₃), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.0 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃), 18.5 (SiC(CH₃)₃), 18.3 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -4.0 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2896, 2857, 1766, 1748, 1523, 1472, 1463, 1441, 1389, 1361, 1337, 1280, 1253, 1204, 1169, 1124, 1084, 1028, 1004, 967, 939, 875, 836, 777, 672.

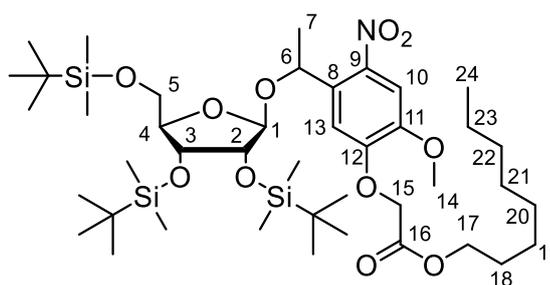
HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 782.3758 [M+Na]⁺, gef.: 782.3741 [M+Na]⁺.

Versuch der Darstellung von Octyl-2-(5-(1-(2,3,5,tri-*tert*-butyldimethylsilylribofuranyl)ethyl)2-methoxy-4-nitrophenoxy)acetat **146**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-2-(5-(1-(2,3,5,tri-*tert*-butyldimethylsilylribofuranyl)ethyl)2-methoxy-4-nitrophenoxy)acetat **145** (357 mg, 469 μ mol), 4.1 Äquiv. Octanol (0.3 mL, 2 mmol) und 6.5 Äquiv. Kalium-*tert*-butanolat (64 mg, 0.57 mmol) vorgelegt und in 10 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung zeigte vollständige Degradation des Edukts.

Summenformel: C₄₂H₇₉NO₁₁Si₃

Molare Masse: 858.3450 g/mol



146

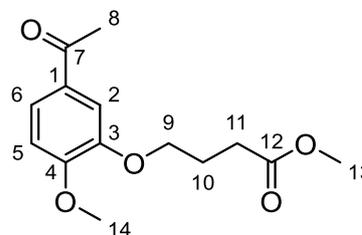
Darstellung von Methyl-4-(5-acetyl-2-methoxyphenoxy)butyrat **148**

Es wurden 1.6 Äquiv. wasserfreies Kaliumcarbonat (4.032 g, 29.18 mmol) vorgelegt, mit 20 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 1.0 Äquiv. 3-Hydroxy-4-methoxyacetophenon **150** (3.008 g, 18.10 mmol) zugegeben. Der Ansatz wurde für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurden 1.5 Äquiv. Methyl-4-brombutyrat (3.4 mL, 27 mmol) zugetropft. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dann mit Wasser und Dichlormethan versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Diethylether verdünnt, mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 87% (4.200 g, 15.77 mmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₄H₁₈O₅

Molare Masse: 266.2930 g/mol



148

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.57 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-6), 7.51 (d, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2), 6.88 (d, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-5), 4.11 (t, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 2H, H-9), 3.92 (s, 3H, H-14), 3.69 (s, 3H, H-13), 2.57 – 2.53 (m, 5H, H-8, H-11), 2.17 (quint, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-10).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 196.9 (C-7), 173.6 (C-12), 153.9 (C-4), 148.3 (C-3), 130.6 (C-1), 123.5 (C-6), 112.1 (C-2), 110.5 (C-5), 68.0 (C-9), 56.2 (C-14), 51.8 (C-13), 30.6 (C-11), 26.3 (C-8), 24.6 (C-10).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2952, 2842, 1733, 1672, 1586, 1511, 1426, 1359, 1264, 1214, 1176, 1148, 1133, 1079, 1022, 948, 884, 810.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 267.1227 [M+H]⁺, gef.: 267.1227 [M+H]⁺.

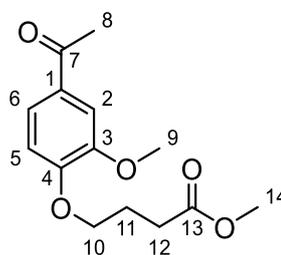
Darstellung von Methyl-4-(4-acetyl-2-methoxyphenoxy)butyrat **147**

Es wurden 1.8 Äquiv. wasserfreies Kaliumcarbonat (4.446 g, 32.17 mmol) vorgelegt, mit 20 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 1.0 Äquiv. 4-Hydroxy-3-methoxyacetophenon **149** (3.015 g, 18.14 mmol) zugegeben. Es wurden 1.5 Äquiv. Methyl-4-brombutyrat (3.4 mL, 27 mmol) zugetropft. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dann mit Wasser und Dichlormethan versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Diethylether verdünnt, zweimal mit Wasser und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 96% (4.636 g, 17.41 mmol) eines farblosen, amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₄H₁₈O₅

Molare Masse: 266.2930 g/mol



147

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.54 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-6), 7.51 (d, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2), 6.88 (d, ³*J*_{H,H} = 8.2 Hz, 1H, H-5), 4.13 (t, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-10), 3.90 (s, 3H, H-9), 3.69 (s, 3H, H-14), 2.57 – 2.54 (m, 5H, H-8, H-12), 2.18 (quint, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-11).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 196.9 (C-7), 173.6 (C-13), 152.8 (C-4), 149.5 (C-3), 130.7 (C-1), 123.3 (C-6), 111.5 (C-5), 110.7 (C-2), 67.9 (C-10), 56.1 (C-9), 51.8 (C-14), 30.5 (C-12), 26.3 (C-8), 24.4 (C-11).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2952, 1734, 1672, 1587, 1510, 1466, 1436, 1417, 1357, 1267, 1219, 1175, 1150, 1135, 1079, 1030, 978, 947, 877, 807.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 289.1046 [M+Na]⁺, gef.: 289.1079 [M+Na]⁺.

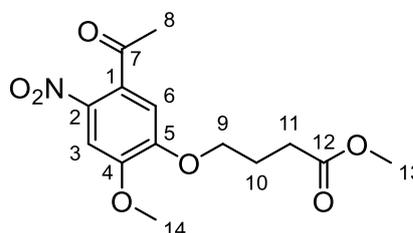
Darstellung von Methyl-4-[(5-ethanoyl-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]butyrat **152**

Es wurde ein Gemisch aus 40 mL konz. Salpetersäure und 8 mL konz. Essigsäure vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Zu diesem gekühlten Gemisch wurde langsam eine Lösung aus 1.0 Äquiv. Methyl-4-(5-acetyl-2-methoxyphenoxy)butyrat **148** (4.080 g, 15.32 mmol) in 8 mL konz. Essigsäure getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde der Ansatz für 2.5 Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in 300 mL Eiswasser gegeben und die entstandene Suspension filtriert. Der Rückstand wurde mit Wasser gewaschen, in Dichlormethan gelöst, die Lösung über Natriumsulfat getrocknet und abschließend wurde das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1.5:1 v/v).

Ausbeute: 55% (2.63 g, 8.45 mmol) eines gelblichen amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₄H₁₇NO₅

Molare Masse: 311.2900 g/mol



152

DC: R_f-Wert (PE/EE 1.5:1 v/v): 0.54.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.59 (s, 1H, H-3), 6.76 (s, 1H, H-6), 4.15 (t, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 2H, H-9), 3.95 (s, 3H, H-14), 3.69 (s, 3H, H-13), 2.54 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 2H, H-11), 2.48 (s, 3H, H-8), 2.19 (quint, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 2H, H-10).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 200.1 (C-7), 173.3 (C-12), 153.4 (C-5), 150.0 (C-4), 138.6 (C-2), 132.9 (C-1), 109.8 (C-6), 107.2 (C-3), 68.6 (C-9), 56.6 (C-14), 51.9 (C-13), 30.5 (C-8), 30.3 (C-11), 24.3 (C-10).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2956, 2926, 2852, 1733, 1705, 1574, 1519, 1461, 1440, 1394, 1335, 1280, 1212, 1175, 1116, 1041, 959, 935, 869, 797, 759.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 334.0897 [M+Na]⁺, gef.: 334.0906 [M+Na]⁺.

Darstellung von Methyl-4-[(4-ethanoyl-2-methoxy-5-nitrophenyl)oxy]butyrat **151**

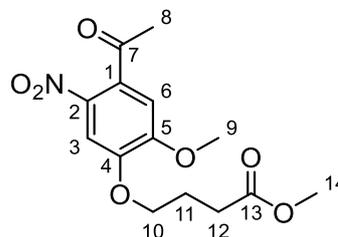
Es wurde ein Gemisch aus 40 mL konz. Salpetersäure und 8 mL konz. Essigsäure vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Zu diesem gekühlten Gemisch wurde langsam eine Lösung aus 1.0 Äquiv. Methyl-4-(4-acetyl-2-methoxyphenoxy)butyrat **147** (4.484 g, 16.84 mmol) in 8 mL konz. Essigsäure getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde der Ansatz für 2.5 Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in 300 mL Eiswasser gegeben und die entstandene Suspension filtriert. Der Rückstand wurde mit Wasser gewaschen, in

Dichlormethan gelöst, die Lösung über Natriumsulfat getrocknet und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1.5:1 v/v).

Ausbeute: 18% (937 mg, 3.01 mmol) eines gelblichen amorphen Feststoffes.

Summenformel: C₁₄H₁₇NO₅

Molare Masse: 311.2900 g/mol



151

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1.5:1 v/v): 0.39.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.60 (s, 1H, H-3), 6.74 (s, 1H, H-6), 4.15 (t, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 2H, H-10), 3.95 (s, 3H, H-9), 3.70 (s, 3H, H-14), 2.56 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 2H, H-12), 2.49 (s, 3H, H-8), 2.20 (quint, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 2H, H-11).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 200.2 (C-7), 173.4 (C-13), 154.4 (C-5), 149.0 (C-4), 138.5 (C-2), 133.0 (C-1), 108.9 (C-6), 108.2 (C-3), 68.6 (C-10), 56.7 (C-9), 51.9 (C-14), 30.5 (C-8), 30.4 (C-12), 24.3 (C-11).

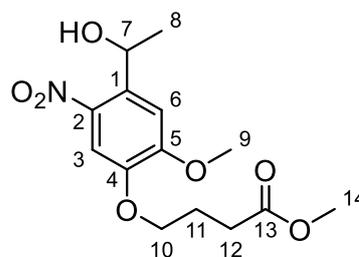
IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2951, 1732, 1706, 1575, 1517, 1467, 1438, 1418, 1335, 1281, 1212, 1176, 1116, 1038, 928, 873, 811, 759.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 312.1078 [M+H]⁺, gef.: 312.1068 [M+H]⁺.

Darstellung von Methyl-4-[(4-(1-hydroxyethyl)-2-methoxy-5-nitrophenyl)oxy]-butyrat 153

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-[(5-(1-hydroxyethyl)-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]butyrat **151** (515 mg, 1.65 mmol) in einem Gemisch aus 30 mL abs. Methanol und 10 mL abs. Dichlormethan gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Es wurden 3.7 Äquiv. Natriumborhydrid (229 mg, 6.05 mmol) zugegeben und die Lösung für eine Stunde bei 0 °C gerührt, die Kühlung entfernt und bis zum vollständigen Umsatz bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus 36 g Citronensäure in 60 mL Wasser zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde mit Dichlormethan versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 96% (499 mg, 1.59 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes.



153

Summenformel: C₁₄H₁₉NO₅

Molare Masse: 313.3060 g/mol

DC: R_f-Wert (PE/EE 1:2 v/v): 0.60.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-3), 7.29 (s, 1H, H-6), 5.56 (dq, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, ³J_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-7), 4.11 (dt, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.4 Hz, 2H, H-10), 3.97 (s, 3H, H-9), 3.70 (s, 3H, H-14), 2.55 (t, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, 2H, H-12), 2.33 (d, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1H, OH), 2.18 (quint, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 2H, H-11), 1.55 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.5 (C-13), 154.3 (C-5), 147.1 (C-4), 139.7 (C-2), 137.0 (C-1), 109.3 (C-3), 108.9 (C-6), 68.4 (C-10), 65.9 (C-7), 56.5 (C-9), 51.9 (C-14), 30.5 (C-12), 24.4 (C-8), 24.4 (C-11).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3437, 2930, 1733, 1613, 1578, 1514, 1440, 1400, 1365, 13331, 1262, 1212, 1166, 1099, 1059, 1017, 936, 876, 853, 800, 759, 709.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 336.1054 [M+Na]⁺, gef.: 336.1039 [M+Na]⁺.

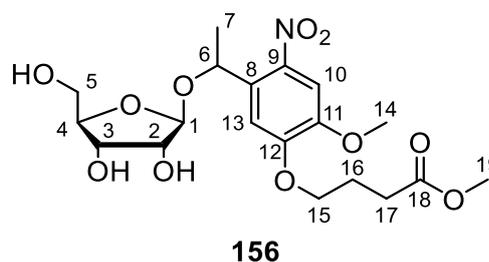
Darstellung von Methyl-4-(5-(1-(β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)-butyrat **156**

Es wurden 0.8 Äquiv. Methyl-4-[(5-(1-hydroxyethyl)-2-methoxy-4-nitrophenyl)oxy]butyrat **156** (892 mg, 287 μ mol) in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst, mit 1.0 Äquiv. 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **49** (1.717 g, 3.403 μ mol) versetzt und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 0.2 Äquiv. Zinn(IV)chlorid (1 M in Dichlormethan, 0.5 mL, 0.5 μ mol) wurde die Reaktion für 30 Minuten bei 0 °C gerührt, anschließend die Kühlung entfernt und weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in 10 mL abs. Methanol suspendiert, mit 0.1 mL ges. Natriummethanolat-Lösung versetzt und für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Abschließend wurde die Reaktionslösung mit konz. Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 72% (916 mg, 206 μ mol) eines orangen Harzes.

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$

Molare Masse: 445.4210 g/mol



DC: R_f -Wert ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v): 0.12.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.20 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.15 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.30 (q, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.26 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.04 (d, ³*J*_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, 2-OH/3-OH, 1 ds), 4.96 (d, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, 2-OH, 1 ds), 4.86 (d, ³*J*_{H,H} = 0.9 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.82 – 4.76 (m, 2H, 3-OH, 1 ds, 2-OH/3-OH, 1 ds), 4.69 (t, ³*J*_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, 5-OH, 1 ds), 4.42 – 4.39 (m, 2H, H-1, 1 ds, 5-OH, 1 ds), 4.17 – 4.09 (m, 4H, H-15, 2 ds), 3.93 – 3.88 (m, 1H, H-3, 1 ds), 3.86 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.85 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.83 – 3.79 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-3, 1 ds), 3.79 – 3.75 (m, 1H, H-2, 1 ds), 3.72 (dt, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.66 (dt, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.61 (s, 3H, H-19, 1 ds), 3.61 (s, 3H, H-19, 1 ds), 3.56 – 3.51 (m, 1H, H-5_{a1}, 1 ds), 3.40 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.33 – 3.28 (m, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.06 (ddd, ²*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.7 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.51 – 2.47 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.05 – 1.99 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.41 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.39 (d, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 172.9 (C-18, 1 ds), 172.9 (C-18, 1 ds), 152.6 (C-12, 1 ds), 152.2 (C-12, 1 ds), 147.7 (C-11, 1 ds), 47.4 (C-11, 1 ds), 140.3 (C-9, 1 ds), 139.0 (C-9, 1 ds), 134.9 (C-8, 1 ds), 133.6 (C-8, 1 ds), 110.6 (C-13, 1 ds), 109.9 (C-13, 1 ds), 107.6 (C-10, 1 ds), 107.5 (C-10, 1 ds), 106.2 (C-13, 1 ds), 104.5 (C-13, 1 ds), 83.9 (C-4, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 74.7 (C-2, 1 ds), 74.3 (C-2, 1 ds), 71.0 (C-3, 1 ds), 70.9 (C-3, 1 ds), 70.3 (C-6, 1 ds), 68.8 (C-6, 1 ds), 67.8 (C-15, 1 ds), 67.7 (C-15, 1 ds), 63.1 (C-5, 1 ds), 62.8 (C-5, 1 ds), 56.1 (C-14, 1 ds), 56.0 (C-14, 1 ds), 51.4 (C-19, 1 ds), 51.4 (C-19, 1 ds), 29.9 (C-17, 1 ds), 29.8 (C-17, 1 ds), 24.0 (C-16, 1 ds), 24.0 (C-16, 1 ds), 23.5 (C-7, 1 ds), 22.6 (C-7, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3411, 2954, 2926, 1731, 1579, 1516, 1457, 1441, 1332, 1268, 1215, 1171, 1086, 1026, 876, 797, 759, 734.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 468.1476 [M+Na]⁺, gef.: 468.1465 [M+Na]⁺.

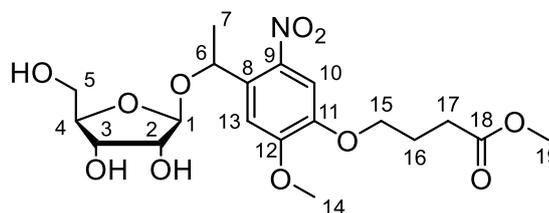
Darstellung von Methyl-4-(4-(1-(β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)-butyrat **155**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-[(4-(1-hydroxyethyl)-2-methoxy-5-nitrophenyl)oxy]butyrat **153** (1.442 g, 4.603 mmol) in 40 mL abs. Dichlormethan gelöst, mit 1.2 Äquiv. 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosid **49** (2.820 g, 3.403 mmol) versetzt und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 0.2 Äquiv. Zinn(IV)chlorid (1 M in Dichlormethan, 0.5 mL, 0.5 mmol) wurde die Reaktion für eine Stunde bei 0 °C gerührt, anschließend die Kühlung entfernt und weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung abgebrochen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in 30 mL abs. Methanol suspendiert, mit katalytischer Menge ges. Natriummethanolat-Lösung versetzt und für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Abschließend wurde die Reaktionslösung mit konz. Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 60% (1.232 mg, 2.766 μ mol) eines gelblichen Harzes aus zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₁₉H₂₇NO₁₁

Molare Masse: 445.4210 g/mol



155

DC: *R_f*-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v): 0.12.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD₃OD, 300 K): 7.59 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.59 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.29 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.23 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.50 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.42 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.99 (d, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.59 (d, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.14 – 4.08 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 4.03 (dd, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.99 – 3.94 (m, 1H, H-2, 1 ds), 3.98 (dd, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.96 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.96 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.92 (ddd, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.86 (ddd, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, ³J_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.75 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-5_{a1}, 1 ds), 3.68 (s, 6H, H-19, 2 ds), 3.62 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.52 (dd, ²J_{H,H} = 11.5 Hz, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.32 – 3.27 (m, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.55 (t, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, 4H, H-17, 2 ds), 2.14 – 2.08 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.49 (d, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.48 (d, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 3H, H-7, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CD₃OD, 300 K): 175.4 (C-18, 1 ds), 175.3 (C-18, 1 ds), 155.6 (C-12, 1 ds), 155.4 (C-12, 1 ds), 148.7 (C-11, 1 ds), 148.4 (C-11, 1 ds), 142.1 (C-9, 1 ds), 140.8 (C-9, 1 ds), 136.6 (C-8, 1 ds), 135.4 (C-8, 1 ds), 111.1 (C-13, 1 ds), 110.3 (C-13, 1 ds), 110.2 (C-10, 1 ds), 110.2 (C-10, 1 ds), 107.8 (C-1, 1 ds), 106.3 (C-1, 1 ds), 85.2 (C-4, 1 ds), 84.8 (C-4, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 72.7 (C-3, 1 ds), 72.7 (C-3, 1 ds), 72.5 (C-6, 1 ds), 71.1 (C-6, 1 ds), 69.5 (C-15, 2 ds), 64.9 (C-5, 1 ds), 64.6 (C-5, 1 ds), 56.8 (C-14, 2 ds), 52.1 (C-19, 2 ds), 31.3 (C-17, 2 ds), 25.6 (C-16, 2 ds), 24.0 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3436, 2952, 1734, 1586, 1517, 1472, 1440, 1355, 1335, 1273, 1217, 1173, 1111, 1089, 1036, 933, 881, 760.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 468.1476 [M+Na]⁺, gef.: 468.1465 [M+Na]⁺.

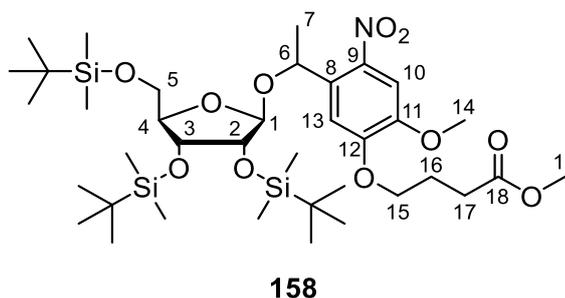
Darstellung von Methyl-4-(5-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **158**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-(5-(1-(β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)-butyrat **156** (357 mg, 801 μ mol) in 10 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und anschließend mit 6.4 Äquiv. Imidazol (350 mg, 5.14 mmol) und 5.0 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (607 mg, 4.03 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel anschließend entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 9:1 v/v).

Ausbeute: 80% (502 mg, 637 μ mol) eines gelben Öls.

Summenformel: C₃₇H₆₉NO₁₁Si₃

Molare Masse: 788.2100 g/mol



DC: *R_f*-Wert (PE/EE 9:1 v/v): 0.44, 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.23 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.10 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.53 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.43 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.86 (d, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.51 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.18 – 4.11 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 4.09 – 4.06 (m, 1H, H-3, 1 ds), 3.95 – 3.92 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.90 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 – 3.82 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.70 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.70 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.65 – 3.59 (m, 2H, H-5_{b1}, 1 ds, H-5_{a2}, 1 ds), 3.44 (dd, ²J_{H,H} = 11.3 Hz, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.59 – 2.54 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.22 – 2.17 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.49 (d, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, H-7, 1 ds), 1.46 (d, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, H-7, 1 ds), 0.94 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.12 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.10 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.10 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.09 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.09 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.08 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.06 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.01 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.03 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.05 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.13 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.5 (C-18, 1 ds), 173.4 (C-18, 1 ds), 153.0 (C-12, 1 ds), 153.0 (C-12, 1 ds), 148.2 (C-11, 1 ds), 147.9 (C-11, 1 ds), 141.0 (C-9, 2 ds), 136.1 (C-8, 1 ds), 134.7 (C-8, 1 ds), 110.6 (C-13, 1 ds), 110.1 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 2 ds), 105.9 (C-1, 1 ds), 104.6 (C-1, 1 ds), 83.6 (C-4, 1 ds), 82.8 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.6 (C-3, 1 ds), 71.5 (C-6, 1 ds), 69.4 (C-6, 1 ds), 68.3 (C-15, 1 ds), 68.1 (C-15, 1 ds), 63.5 (C-5, 2 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 51.9 (C-19, 1 ds), 51.8 (C-19, 1 ds), 30.5 (C-17, 1 ds), 30.5 (C-17, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), -3.4 (SiCH₃, 1 ds), -4.0 (SiCH₃, 1 ds), -4.2 (SiCH₃, 1 ds), -4.3 (SiCH₃, 1 ds), -4.3 (SiCH₃, 1 ds), -4.5 (SiCH₃, 1 ds), -4.7 (SiCH₃, 1 ds), -4.7 (SiCH₃, 1 ds), -5.1 (SiCH₃, 1 ds), -5.2 (SiCH₃, 1 ds), -5.3 (SiCH₃, 1 ds), -5.4 (SiCH₃, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2857, 1740, 1580, 1520, 1471, 1463, 1441, 1389, 1361, 1335, 1270, 1252, 1217, 1168, 1123, 1097, 1080, 1030, 1003, 967, 938, 873, 834, 775, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 810.4071 [M+Na]⁺, gef.: 468.1465 [M+Na]⁺.

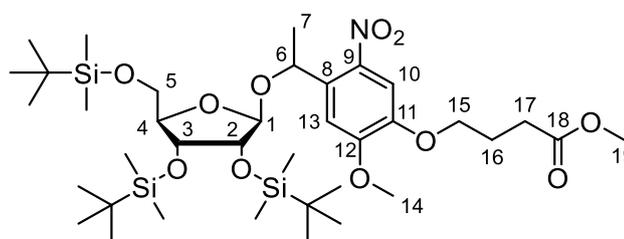
Darstellung von Methyl-4-(4-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **157**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-(4-(1-(β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)-butyrat **155** (1.222 g, 2.743 mmol) in 10 mL abs. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und anschließend mit 6.4 Äquiv. Imidazol (1.192 g, 17.51 mmol) und 4.9 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (2.024 g, 13.43 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und die Reaktionslösung anschließend mit Wasser und Dichlormethan verdünnt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert und die organischen Phasen vereint. Diese wurden mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abschließend wurde das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 9:1 v/v).

Ausbeute: 95% (2.044 g, 2.593 mmol) eines gelben Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₇H₆₉NO₁₁Si₃

Molare Masse: 788.2100 g/mol



DC: *R_f*-Wert (PE/EE 9:1 v/v): 0.29, 0.20.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.27 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.11 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.55 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, H-6, 1 ds), 4.87 (d, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, H-1, 1 ds), 4.54 (d, ³*J*_{H,H} = 0.8 Hz, H-1, 1 ds), 4.18 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.15 – 4.05 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 3.96 – 3.91 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-2, 1 ds), 3.95 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.90 – 3.81 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.70 (s, 6H, H-14, 2 ds), 3.66 – 3.59 (m, 2H, H-5_{b1}, 1 ds, H-5_{a2}, 1 ds), 3.46 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.55 (t, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-17, 1 ds), 2.55 (t, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-17, 1 ds), 2.19 (p, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 4H, H-16, 2 ds), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.5 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.94 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.12 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.10 (s, 6H, SiCH₃, 2 ds), 0.10 (s, 6H, SiCH₃, 2 ds), 0.06 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), 0.01 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.02 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.05 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds), -0.11 (s, 3H, SiCH₃, 1 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.5 (C-18, 1 ds), 173.5 (C-18, 1 ds), 154.0 (C-12, 2 ds), 147.1 (C-11, 1 ds), 146.9 (C-11, 1 ds), 140.8 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 136.4 (C-8, 1 ds), 135.0 (C-8, 1 ds), 109.9 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-10, 1 ds), 109.1 (C-10, 1 ds), 106.0 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 77.4 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.1 (C-3, 1 ds), 71.9 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.5 (C-6, 1 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 68.3 (C-15, 1 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.3 (C-14, 1 ds), 51.9 (C-19, 1 ds), 51.8 (C-19, 1 ds), 30.5 (C-17, 1 ds), 30.5 (C-17, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 3 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.4 (C-16, 1 ds), 24.4 (C-16, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (Si(CH₃)₃, 1 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2896, 2857, 1739, 1579, 1519, 1472, 1463, 1443, 1388, 1361, 1335, 1272, 1252, 1216, 1167, 1124, 1096, 1079, 1021, 1002, 968, 938, 874, 833, 774, 733, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 810.4071 [M+Na]⁺, gef.: 810.4067 [M+Na]⁺.

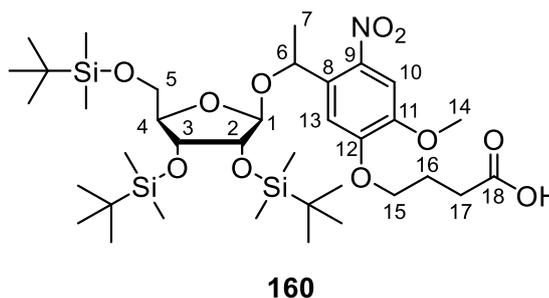
Darstellung von 4-(5-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **160**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-(5-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **158** (745 mg, 945 μ mol) in 30 mL eines Gemisches aus Methanol/Triethylamin/Wasser (2:2:1 *v/v/v*) gelöst. Es erfolgte die Zugabe von 10 mL einer 1 M Natronlauge und die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von konz. Salzsäure auf pH < 1 eingestellt. Die Lösung wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 *v/v*) gereinigt.

Ausbeute: 85% (625 mg, 807 μ mol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₆H₆₇NO₁₁Si₃

Molare Masse: 774.1830 g/mol



DC: *R_f*-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 *v/v*): 0.20.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.26 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.10 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.54 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.42 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.83 (d, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.52 (d, ³J_{H,H} = 0.7 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.20 – 4.13 (m, 5H, H-15, 2 ds, H-3, 1 ds), 4.08 (dd, ³J_{H,H} = 5.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.3 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.95 – 3.91 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-2, 1 ds), 3.91 (s, 6H, H-14, 2 ds), 3.89 – 3.82 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.64 (dd, ²J_{H,H} = 11.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1 ds, H-5_{b1}, 1 ds), 3.63 (dd, ²J_{H,H} = 11.3 Hz, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1 ds, H-5_{a2}, 1 ds), 3.48 (dd, ²J_{H,H} = 11.2 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1 ds, H-5_{b2}, 1 ds), 2.67 – 2.57 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.24 – 2.16 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.50 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.46 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.94 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 27H, SiC(CH₃)₃), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 6H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.03 (s, 3H, SiCH₃), -0.13 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃, 300 K): 177.8 (C-18, 1 ds), 177.5 (C-18, 1 ds), 153.0 (C-12, 1 ds), 152.9 (C-12, 1 ds), 148.2 (C-11, 1 ds), 148.0 (C-11, 1 ds), 141.1 (C-9, 1 ds), 139.6 (C-9, 1 ds), 136.0 (C-8, 1 ds), 134.7 (C-8, 1 ds), 110.7 (C-13, 1 ds), 110.2 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 105.9 (C-1, 1 ds), 104.6 (C-1, 1 ds), 83.6 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.6 (C-3, 1 ds), 71.5 (C-6, 1 ds), 69.5 (C-6, 1 ds), 68.1 (C-15, 1 ds), 68.0 (C-15, 1 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 30.3 (C-17, 1 ds), 30.3 (C-17, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 3 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.3 (C-16, 2 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.2 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2928, 2857, 1712, 1581, 1521, 1471, 1463, 1443, 1389, 1362, 1335, 1271, 1254, 1218, 1167, 1124, 1097, 1080, 1031, 1004, 967, 939, 874, 837, 777, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 796.3914 [M+Na]⁺, gef.: 796.3920 [M+Na]⁺.

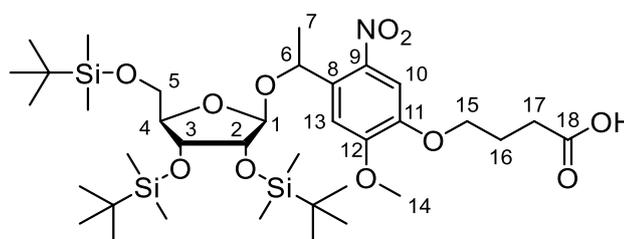
Darstellung von 4-(4-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **159**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-(4-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **157** (984 mg, 1.25 mmol) in 25 mL eines Gemisches aus Methanol/Triethylamin/Wasser (2:2:1 v/v/v) gelöst. Es erfolgte die Zugabe von 10 mL 1 M Natronlauge und die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von konz. Salzsäure auf pH < 1 eingestellt. Die Lösung wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 89% (858 mg, 1.11 mmol) eines gelben, amorphen Feststoffes als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₆H₆₇NO₁₁Si₃

Molare Masse: 774.1830 g/mol



159

DC: *R_f*-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v): 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 12.17 (brs, 1H, COOH, 2 ds), 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.20 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.15 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.30 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.26 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.86 (d, ³*J*_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.36 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.16 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.11 – 3.98 (m, 6H, H-2, 1 ds, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 3.94 – 3.90 (m, 1H, H-2, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.82 – 3.74 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.74 – 3.69 (m, 1H, H-4, 1 ds), 3.58 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.52 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.26 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.38 (t, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-17, 1 ds), 2.37 (t, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-17, 1 ds), 1.95 (p, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-16, 1 ds), 1.94 (p, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-16, 1 ds), 1.46 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.42 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.77 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.74 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 6H, SiCH₃), 0.08 (s, 6H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.05 (s, 3H, SiCH₃), -0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.10 (s, 3H, SiCH₃), -0.12 (s, 3H, SiCH₃), -0.17 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 173.9 (C-18, 2 ds), 153.5 (C-12, 1 ds), 153.2 (C-12, 1 ds), 146.9 (C-11, 1 ds), 146.5 (C-11, 1 ds), 140.9 (C-9, 1 ds), 139.0 (C-9, 1 ds), 134.7 (C-8, 1 ds), 132.6 (C-8, 1 ds), 109.6 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-13, 1 ds), 108.4 (C-10, 1 ds), 108.4 (C-10, 1 ds), 105.2 (C-1, 1 ds), 103.8 (C-1, 1 ds), 83.1 (C-4, 1 ds), 82.0 (C-4, 1 ds), 75.9 (C-2, 1 ds), 75.8 (C-2, 1 ds), 71.8 (C-3, 1 ds), 70.7 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-6, 1 ds), 68.4 (C-6, 1 ds), 68.0 (C-15, 1 ds), 67.9 (C-15, 1 ds), 63.1 (C-5, 1 ds), 62.5 (C-5, 1 ds), 56.2 (C-14, 1 ds), 55.9 (C-14, 1 ds), 29.9 (C-17, 1 ds), 29.9 (C-17, 1 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.6 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.6 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.4 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.0 (C-16, 1 ds), 23.9 (C-16, 1 ds), 23.3 (C-7, 1 ds), 22.5 (C-7, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 17.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 17.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 17.7 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 17.7 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 17.6 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), -4.4 (SiCH₃), -4.6 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.4 (SiCH₃), -5.5 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2896, 2857, 1711, 1582, 1519, 1472, 1443, 1389, 1361, 1336, 1272, 1252, 1217, 1164, 1097, 1080, 1031, 1004, 968, 938, 873, 834, 776, 672.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 796.3914 [M+Na]⁺, gef.: 796.3937 [M+Na]⁺.

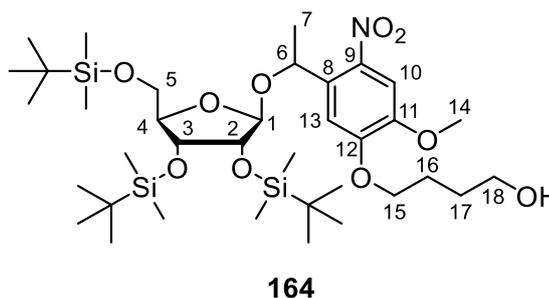
Darstellung von 4-(5-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butanol **164**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-(5-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **158** (670 mg, 850 μ mol) in 7 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die langsame Zugabe von 3.6 Äquiv. Lithiumaluminiumhydrid (115 mg, 3.03 mmol). Die Suspension wurde für 15 Minuten bei 0 °C gerührt, die Kühlung entfernt und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde Ethylacetat zugegeben und für 15 Minuten gerührt. Anschließend wurde festes Kaliumcarbonat und Wasser zugegeben, weitere 15 Minuten gerührt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 1:1 v/v).

Ausbeute: 55% (354 mg, 466 μ mol) einer gelblichen, sirupartigen Flüssigkeit als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₆H₆₉NO₁₀Si₃

Molare Masse: 760.2000 g/mol



DC: R_f -Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.49.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.59 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.25 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.11 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.54 (q, ³ $J_{H,H}$ = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.44 (q, ³ $J_{H,H}$ = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.85 (d, ³ $J_{H,H}$ = 2.8 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.53 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.19 – 4.12 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 4.08 (dd, ³ $J_{H,H}$ = 5.6 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.95 – 3.90 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 – 3.83 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.75 (t, ³ $J_{H,H}$ = 6.2 Hz, 2H, H-18, 1 ds), 3.74 (t, ³ $J_{H,H}$ = 6.2 Hz, 2H, H-18, 1 ds), 3.63 (dd, ² $J_{H,H}$ = 11.5 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.5 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.62 (dd, ² $J_{H,H}$ = 11.1 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.0 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.46 (dd, ² $J_{H,H}$ = 11.1 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.03 – 1.96 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.82 – 1.76 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.50 (d, ³ $J_{H,H}$ = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.46 (d, ³ $J_{H,H}$ = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 6H, SiCH₃), 0.08

(s, 3H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.04 (s, 3H, SiCH₃), -0.12 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.1 (C-12, 1 ds), 153.0 (C-12, 1 ds), 148.0 (C-11, 1 ds), 147.8 (C-11, 1 ds), 140.9 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 136.1 (C-8, 1 ds), 134.8 (C-8, 1 ds), 110.4 (C-13, 1 ds), 109.8 (C-13, 1 ds), 107.8 (C-10, 2 ds), 105.9 (C-1, 1 ds), 104.6 (C-1, 1 ds), 83.6 (C-4, 1 ds), 82.8 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.6 (C-3, 1 ds), 71.4 (C-6, 1 ds), 69.5 (C-6, 1 ds), 69.4 (C-15, 1 ds), 69.2 (C-15, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 62.4 (C-18, 2 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 29.7 (C-17, 1 ds), 29.7 (C-17, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.7 (C-16, 1 ds), 25.7 (C-16, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.2 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2952, 2929, 2857, 1581, 1520, 1472, 1463, 1444, 1389, 1361, 1335, 1270, 1217, 1167, 1124, 1097, 1079, 1033, 1004, 967, 939, 875, 836, 797, 777, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 782.4121 [M+Na]⁺, gef.: 782.4223 [M+Na]⁺.

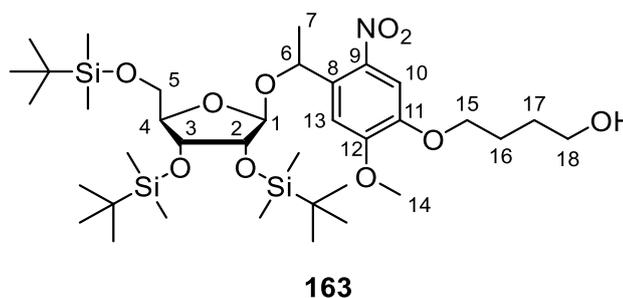
Darstellung von 4-(4-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butanol **163**

Es wurden 1.0 Äquiv. Methyl-4-(4-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **157** (1.055 g, 1.338 mmol) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst. Es erfolgte die langsame Zugabe von 3.1 Äquiv. Lithiumaluminiumhydrid (156 mg, 4.11 mmol). Die Suspension wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde Ethylacetat zugegeben und für 15 Minuten gerührt. Anschließend wurde festes Kaliumcarbonat und Wasser zugegeben, weitere 15 Minuten gerührt und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 1:1 v/v).

Ausbeute: 71% (721 mg, 948 μ mol) eines gelben Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₆H₆₉NO₁₀Si₃

Molare Masse: 760.2000 g/mol



DC: *R_f*-Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.31.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.27 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.11 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.55 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.87 (d, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.54 (d, ³*J*_{H,H} = 0.7 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.16 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.15 – 4.05 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 3.97 – 3.91 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.95 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 (dd, ³*J*_{H,H} = 0.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.88 – 3.82 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.74 (t, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 4H, H-18, 2 ds), 3.63 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.61 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.46 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 1.98 (p, ³*J*_{H,H} = 6.7 Hz, 4H, H-16, 2 ds), 1.78 (p, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 4H, H-17, 2 ds), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 4H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 4H, H-7, 1 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 6H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.05 (s, 3H, SiCH₃), -0.11 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 153.9 (C-12, 2 ds), 147.2 (C-11, 1 ds), 146.9 (C-11, 1 ds), 140.9 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 136.3 (C-8, 1 ds), 134.9 (C-8, 1 ds), 109.8 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-13, 1 ds), 108.8 (C-10, 1 ds), 108.7 (C-10, 1 ds), 106.0 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 76.9 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.1 (C-3, 1 ds), 71.9 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.6 (C-6, 1 ds), 69.4 (C-15, 1 ds), 69.3 (C-15, 1 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 62.5 (C-18, 2 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 29.7 (C-17, 1 ds), 29.6 (C-17, 1 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.7 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.7 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3410, 2952, 2928, 2857, 1579, 1520, 1471, 1389, 1361, 1335, 1271, 1253, 1217, 1156, 1123, 1097, 1079, 1020, 1004, 968, 939, 875, 835, 814, 776, 672, 595, 562.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 782.4121 [M+Na]⁺, gef.: 782.4114 [M+Na]⁺.

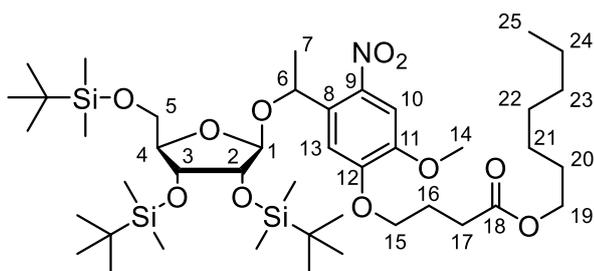
Darstellung von Heptyl-4-(5-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **162**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(5-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **160** (498 mg, 643 μ mol) in 5 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 1.2 Äquiv. Triethylamin (0.11 mL, 0.79 mmol) und 1.1 Äquiv. 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid (0.11 mL, 0.70 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0.4 Äquiv. 4-(Dimethylamino)pyridin (29 mg, 0.24 mmol) und 1.2 Äquiv. Heptanol (0.11 mL, 0.77 mmol) und die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Natriumchlorid-Lösung beendet. Anschließend wurde die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 19:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 90% (505 mg, 579 μ mol) eines gelblichen Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₄₃H₈₁NO₁₁Si₃

Molare Masse: 872.3720 g/mol



162

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 19:1 v/v): 0.44.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.23 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.10 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.54 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.43 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.86 (d, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.51 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.17 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.16 – 4.12 (m, 4H, H-15, 2 ds), 4.10 – 4.06 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-19, 2 ds), 3.95 – 3.90 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.88 (d, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.87 – 3.82 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.63 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.60 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.44 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.61 – 2.49 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.23 – 2.16 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.62 (p, ³*J*_{H,H} = 6.7 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.49 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.46 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.37 – 1.22 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 – 0.86 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.83 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 6H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H,

SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.05 (s, 3H, SiCH₃), -0.13 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.1 (C-18, 2 ds), 153.1 (C-12, 1 ds), 153.1 (C-12, 1 ds), 148.2 (C-11, 1 ds), 147.9 (C-11, 1 ds), 141.0 (C-9, 1 ds), 139.5 (C-9, 1 ds), 136.1 (C-8, 1 ds), 134.7 (C-8, 1 ds), 110.6 (C-13, 1 ds), 110.1 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 107.9 (C-10, 1 ds), 105.9 (C-1, 1 ds), 104.6 (C-1, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 82.8 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.6 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.4 (C-6, 1 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 68.2 (C-15, 1 ds), 65.0 (C-19, 1 ds), 64.9 (C-19, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 31.9, 31.8, 29.1, 26.0, 22.7 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 30.7 (C-17, 1 ds), 28.8 (C-20, 2 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 3 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.6 (C-16, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃), -5.4 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2928, 2857, 1737, 1580, 1521, 1471, 1443, 1388, 1361, 1335, 1271, 1254, 1218, 1168, 1120, 1097, 1079, 1030, 1003, 967, 938, 875, 835, 776, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 894.5010 [M+Na]⁺, gef.: 894.4994 [M+Na]⁺.

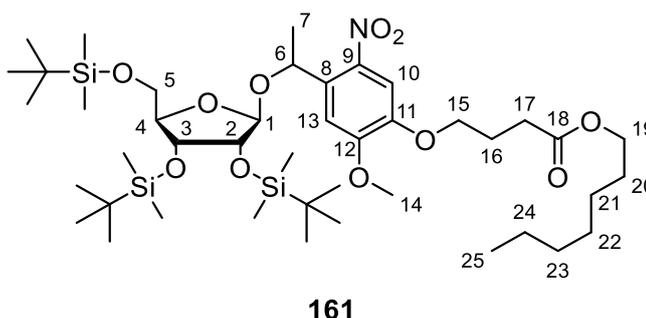
Darstellung von Heptyl-4-(4-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **161**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(4-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **159** (847 mg, 1.08 μ mol) in 10 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 1.2 Äquiv. Triethylamin (0.18 mL, 1.3 mmol) und 1.1 Äquiv. 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid (0.19 mL, 1.2 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0.3 Äquiv. 4-(Dimethylamino)pyridin (42 mg, 0.34 mmol) und 1.2 Äquiv. Heptanol (0.19 mL, 1.3 mmol) und die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Natriumchlorid-Lösung beendet. Anschließend wurde die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und abschließend das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 19:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 78% (728 mg, 835 μ mol) eines gelben Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₄₃H₈₁NO₁₁Si₃

Molare Masse: 872.3720 g/mol



DC: *R_f*-Wert (PE/EE19:1 v/v): 0.30.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.21 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.11 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.55 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.87 (d, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.54 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.18 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.14 – 4.06 (m, 9H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds, H-19, 2 ds), 3.96 – 3.91 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.95 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 – 3.82 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.63 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.61 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.46 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.54 (t, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, 4H, H-17, 2 ds), 2.18 (p, ³*J*_{H,H} = 6.7 Hz, 4H, H-16, 2 ds), 1.63 (p, ³*J*_{H,H} = 6.7 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.37 – 1.24 (m, 16, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 – 0.85 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10

(s, 9H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.04 (s, 3H, SiCH₃), -0.11 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.1 (C-18, 1 ds), 173.1 (C-18, 1 ds), 154.0 (C-12, 2 ds), 147.2 (C-11, 1 ds), 146.9 (C-11, 1 ds), 140.8 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 136.3 (C-8, 1 ds), 135.0 (C-8, 1 ds), 109.9 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-10, 1 ds, C-13, 1 ds), 109.1 (C-10, 1 ds), 106.0 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 76.9 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.1 (C-3, 1 ds), 71.9 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.6 (C-6, 1 ds), 68.5 (C-15, 1 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 64.9 (C-19, 2 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 31.9, 29.1, 26.0, 22.7 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 28.8 (C-20, 2 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 4 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2928, 2857, 1736, 1585, 1520, 1471, 1389, 1361, 1336, 1273, 1252, 1217, 1167, 1097, 1080, 1030, 1004, 969, 938, 874, 834, 775, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 894.4997 [M+Na]⁺, gef.: 894.5010 [M+Na]⁺.

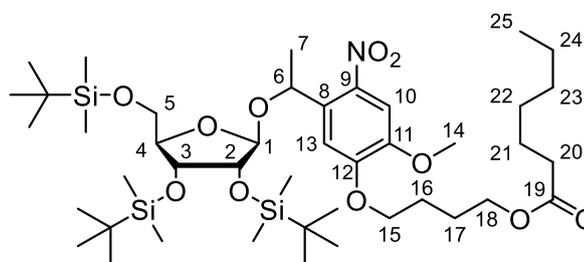
Darstellung von 4-(5-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **166**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(5-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butanol **164** (348 mg, 458 μ mol) in 5 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die Zugabe von 2.4 Äquiv. Triethylamin (0.15 mL, 1.1 mmol) und 2.1 Äquiv. Heptanoylchlorid (0.15 mL, 0.97 μ mol). Die Reaktionslösung wurde für 90 Minuten bei 0 °C gerührt, anschließend mit Dichlormethan verdünnt, mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert, und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 15:1 v/v).

Ausbeute: 82% (329 mg, 377 μ mol) eines gelblichen Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₄₃H₈₁NO₁₁Si₃

Molare Masse: 872.3720 g/mol



166

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 15:1 v/v): 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.24 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.09 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.54 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.44 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.85 (d, ³*J*_{H,H} = 2.6 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.52 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.19 – 4.14 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-18, 2 ds), 4.14 – 4.07 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 3.94 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.6 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.93 – 3.91 (m, 1H, H-4, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.88 (d, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.87 – 3.82 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.63 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.61 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.45 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.30 (t, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, 1H, H-20, 1 ds), 2.29 (t, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, 1H, H-20, 1 ds), 1.99 – 1.92 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.88 – 1.81 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.65 – 1.59 (m, 4H, H-21, 2 ds), 1.50 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.46 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.35 – 1.24 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 – 0.85 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.83 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 6H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.04 (s, 3H, SiCH₃), -0.12 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 174.0 (C-19, 1 ds), 174.0 (C-19, 1 ds), 153.2 (C-12, 2 ds), 148.2 (C-11, 1 ds), 147.9 (C-11, 1 ds), 140.9 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 136.1 (C-8, 1 ds), 134.7 (C-8, 1 ds), 110.5 (C-13, 1 ds), 110.0 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 107.9 (C-10, 1 ds), 105.9 (C-1, 1 ds), 104.6 (C-1, 1 ds), 83.6 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.6 (C-6, 1 ds), 71.4 (C-3, 1 ds), 69.5 (C-6, 1 ds), 68.9 (C-15, 1 ds), 68.8 (C-15, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 63.8 (C-18, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 63.4 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 34.5 (C-20, 2 ds), 31.6, 29.0, 22.6 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 3 ds), 26.0 (C-17, 2 ds), 25.8 (C-16, 2 ds), 25.6 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.1 (C-21, 2 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃), -5.4 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2857, 1736, 1520, 1463, 1389, 1361, 1335, 1270, 1253, 1218, 1166, 1098, 1080, 1027, 1004, 968, 939, 874, 834, 776, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 894.5010 [M+Na]⁺, gef.: 894.5051 [M+Na]⁺.

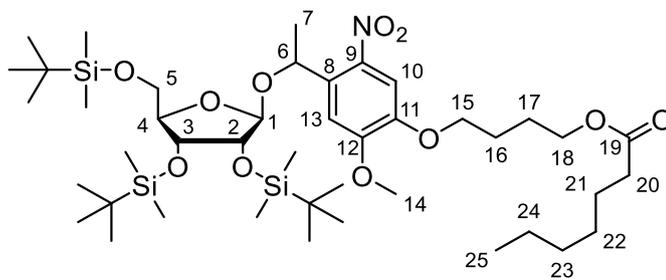
Darstellung von 4-(4-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **165**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(4-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butanol **163** (710 mg, 934 μ mol) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die Zugabe von 1.5 Äquiv. Triethylamin (0.20 mL, 1.4 mmol) und 1.7 Äquiv. Heptanoylchlorid (0.24 mL, 1.6 mmol). Die Reaktionslösung wurde für zwei Stunden bei 0 °C gerührt, anschließend mit Dichlormethan verdünnt, mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert, und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 10:1 v/v).

Ausbeute: 79% (634 mg, 739 μ mol) eines gelben Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₄₃H₈₁NO₁₁Si₃

Molare Masse: 872.3720 g/mol



165

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 10:1 v/v): 0.39.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.58 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.27 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.11 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.55 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.87 (d, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.54 (d, ³*J*_{H,H} = 0.8 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.20 – 4.11 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-18, 2 ds), 4.11 – 4.04 (m, 5H, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds), 3.96 – 3.91 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-2, 1 ds), 3.95 (s, 1H, H-14, 1 ds), 3.95 (s, 1H, H-14, 1 ds), 3.89 (dd, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 0.9 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.88 – 3.81 (m, 2H, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.63 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.61 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.46 (dd, ²*J*_{H,H} = 11.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.30 (t, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.99 – 1.90 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.88 – 1.80 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.67 – 1.58 (m, 4H, H-21, 2 ds), 1.51 (d, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.36 – 1.25 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.95 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.89 – 0.85 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.13 (s, 3H, SiCH₃), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 9H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.02 (s, 3H, SiCH₃), -0.04 (s, 3H, SiCH₃), -0.11 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 174.0 (C-19, 2 ds), 154.0 (C-12, 2 ds), 147.3 (C-11, 1 ds), 147.0 (C-11, 1 ds), 140.8 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 136.3 (C-8, 1 ds), 134.9 (C-8, 1 ds), 109.9 (C-13, 1 ds), 109.1 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-10, 1 ds), 108.9 (C-10, 1 ds), 106.0 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 83.7 (C-4, 1 ds), 82.9 (C-4, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 72.1 (C-3, 1 ds), 71.9 (C-6, 1 ds), 71.5 (C-3, 1 ds), 69.6 (C-6, 1 ds), 69.0 (C-15, 1 ds), 69.0 (C-15, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 63.6 (C-5, 1 ds), 63.5 (C-5, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 34.5 (C-20, 2 ds), 31.6, 29.0, 22.6 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 26.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 26.0 (C-16, 2 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.5 (C-17, 1 ds), 25.5 (C-17, 1 ds), 25.1 (C-21, 2 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 18.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.5 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.3 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2928, 2857, 1737, 1580, 1520, 1463, 1361, 1335, 1272, 1253, 1217, 1165, 1098, 1079, 1022, 1004, 968, 939, 875, 834, 813, 775, 671.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 894.5010 [M+Na]⁺, gef.: 894.5157 [M+Na]⁺.

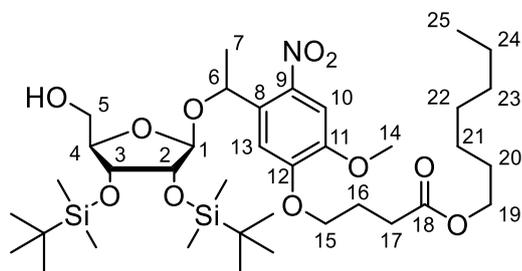
Darstellung von Heptyl-4-(5-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **168**

Es wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(5-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **162** (486 mg, 557 μ mol) in 4 mL Tetrahydrofuran gelöst, auf 0 °C gekühlt und jeweils 1 mL Wasser und Trifluoressigsäure zugegeben. Der Ansatz wurde für zwei Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 71% (300 mg, 396 μ mol) eines gelblichen Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₇H₆₇NO₁₁Si₂

Molare Masse: 758.1090 g/mol



162

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.18.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.18 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.10 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.50 (q, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.43 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.87 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.52 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.32 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.22 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.18 (t, ³*J*_{H,H} = 6.0 Hz, 2H, H-15, 1 ds), 4.16 (t, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 2H, H-15, 1 ds), 4.09 (t, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-19, 1 ds), 4.08 (t, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-19, 1 ds), 4.02 (dt, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.98 (d, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.94 (dt, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.88 – 3.85 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.67 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.0 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.64 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.58 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.0 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.61 – 2.49 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.24 – 2.16 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.65 – 1.59 (m, 4H, H-20, 2 ds), 1.51 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.36 – 1.23 (m, 16H H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.88 – 0.85 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.12 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 6H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.14 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.3 (C-18, 1 ds), 173.1 (C-18, 1 ds), 153.2 (C-12, 1 ds), 153.2 (C-12, 1 ds), 148.4 (C-11, 1 ds), 148.1 (C-11, 1 ds), 140.8 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 135.3 (C-8, 1 ds), 134.3 (C-8, 1 ds), 110.2 (C-13, 1 ds), 110.0 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 107.9 (C-10, 1 ds), 107.0 (C-1, 1 ds), 105.5 (C-1, 1 ds), 82.5 (C-4, 1 ds), 82.5 (C-4, 1 ds), 76.9 (C-2, 1 ds), 76.8 (C-2, 1 ds), 72.3 (C-6, 1 ds), 70.7 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-6, 1 ds), 70.2 (C-3, 1 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 68.3 (C-15, 1 ds), 65.0 (C-19, 1 ds), 65.0 (C-19, 1 ds), 61.3 (C-5, 1 ds), 61.1 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 31.9, 29.1, 26.0, 22.7 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 30.7 (C-17, 1 ds), 30.7 (C-17, 1 ds), 28.8 (C-20, 1 ds), 28.8 (C-20, 1 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.0 (C-7, 1 ds), 23.4 (C-7, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.6 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2857, 1734, 1579, 1519, 1463, 1443, 1388, 1361, 1334, 1270, 1217, 1164, 1118, 1087, 1028, 997, 940, 874, 833, 813, 797, 775, 672.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 780.4145 [M+Na]⁺, gef.: 780.4128 [M+Na]⁺.

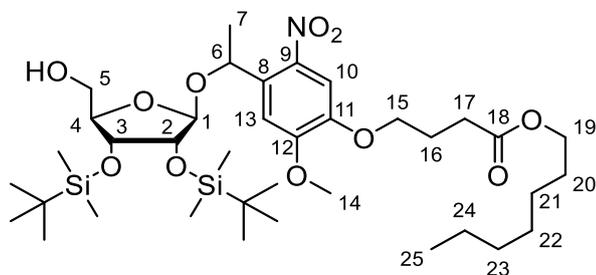
Darstellung von Heptyl-4-(4-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **167**

Es wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(4-(1-(2,3,5-tri-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **161** (714 mg, 818 μ mol) in 4 mL Tetrahydrofuran gelöst, auf 0 °C gekühlt und jeweils 1 mL Wasser und Trifluoressigsäure zugegeben. Der Ansatz wurde für zwei Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 81% (503 mg, 663 μ mol) eines gelben Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₇H₆₇NO₁₁Si₂

Molare Masse: 758.1090 g/mol



167

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.15.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.17 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.10 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.52 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.89 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.54 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.33 (dd, ³J_{H,H} = 8.1 Hz, ³J_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.24 (dd, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.15 – 4.06 (m, 4H, H-15, 2 ds, H-19, 2 ds), 4.03 (dt, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.98 (d, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.97 – 3.93 (m, 1H, H-4, 1 ds), 3.96 (s, 6H, H-14, 2 ds), 3.90 – 3.85 (m, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.65 (dd, ²J_{H,H} = 12.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.59 (dd, ²J_{H,H} = 12.3 Hz, ³J_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.36 (dd, ²J_{H,H} = 12.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.54 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 4H, H-17, 2 ds), 2.23 – 2.13 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.63 (p, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.52 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.48 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.37 – 1.23 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 18H, SiC(CH₃)₃, 2 ds), 0.89 – 0.85 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.11 (s, 6H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.13 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.2 (C-18, 1 ds), 173.1 (C-18, 1 ds), 154.2 (C-12, 1 ds), 154.2 (C-12, 1 ds), 147.4 (C-11, 1 ds), 147.2 (C-11, 1 ds), 140.7 (C-9, 2 ds), 135.5 (C-8, 1 ds), 134.5 (C-8, 1 ds), 109.3 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-10, 1 ds), 109.0 (C-10, 1 ds), 106.9 (C-1, 1 ds), 105.5 (C-1, 1 ds), 82.5 (C-4, 1 ds), 82.5 (C-4, 1 ds), 77.0 (C-2, 1 ds), 77.0 (C-2, 1 ds), 72.2 (C-6, 1 ds), 70.7 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-3, 1 ds), 70.4 (C-6, 1 ds), 68.5 (C-15, 1 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 65.0 (C-19, 1 ds), 64.9 (C-19, 1 ds), 61.3 (C-5, 1 ds), 61.0 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.3 (C-14, 1 ds), 31.9, 29.1, 26.0, 22.7 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 28.8 (C-20, 2 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.4 (C-7, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2928, 2857, 1735, 1579, 1519, 1464, 1388, 1361, 1335, 1272, 1253, 1216, 1164, 1117, 1087, 1022, 996, 970, 940, 874, 833, 775, 672.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 780.4145 [M+Na]⁺, gef.: 780.4211 [M+Na]⁺.

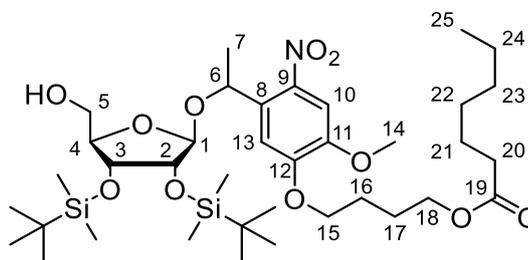
Darstellung von 4-(5-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **170**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(5-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **166** (313 mg, 359 μ mol) in 4 mL Tetrahydrofuran gelöst, auf 0 °C gekühlt und jeweils 1 mL Wasser und Trifluoressigsäure zugegeben. Der Ansatz wurde für zwei Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 82% (222 mg, 293 μ mol) eines gelblichen Öls als Gemisch zwei Diastereomere.

Summenformel: C₃₇H₆₇NO₁₁Si₂

Molare Masse: 758.1090 g/mol



170

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.38.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.16 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.08 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.51 (q, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.44 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.88 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.63 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.33 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.23 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.18 – 4.11 (m, 4H, H-15, 2 ds, H-18, 2 ds), 4.02 (dt, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.98 (d, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.95 (dt, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 – 3.84 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.64 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.58 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.9 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.36 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.30 (t, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 2.30 (t, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 2.00 – 1.93 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.88 – 1.81 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.65 – 1.58 (m, 4H, H-21, 2 ds), 1.52 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.35 – 1.24 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.90 – 0.87 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 18H, SiC(CH₃)₃, 2 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.14 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 174.1 (C-19, 1 ds), 174.0 (C-19, 1 ds), 153.3 (C-12, 1 ds), 153.3 (C-12, 1 ds), 148.4 (C-11, 1 ds), 148.1 (C-11, 1 ds), 140.7 (C-9, 1 ds), 139.3 (C-9, 1 ds), 135.3 (C-8, 1 ds), 134.3 (C-8, 1 ds), 110.0 (C-13, 1 ds), 109.8 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 107.9 (C-10, 1 ds), 107.0 (C-1, 1 ds), 105.5 (C-1, 1 ds), 82.5 (C-4, 2 ds), 76.9 (C-2, 1 ds), 76.9 (C-2, 1 ds), 72.3 (C-6, 1 ds), 70.7 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-3, 1 ds), 70.3 (C-6, 1 ds), 69.0 (C-15, 1 ds), 68.8 (C-15, 1 ds), 63.8 (C-18, 1 ds), 63.8 (C-18, 1 ds), 61.3 (C-5, 1 ds), 61.0 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 34.5 (C-20, 1 ds), 34.5 (C-20, 1 ds), 31.6, 29.0, 22.6 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.6 (C-16, 2 ds), 25.5 (C-17, 2 ds), 25.1 (C-21, 2 ds), 24.0 (C-7, 1 ds), 23.4 (C-7, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.6 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3520, 2953, 2929, 2857, 1735, 1651, 1580, 1520, 1463, 1389, 1361, 1335, 1270, 1218, 1163, 1090, 1026, 1004, 941, 923, 874, 833, 798, 776, 672, 626.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 780.4145 [M+Na]⁺, gef.: 780.4133 [M+Na]⁺.

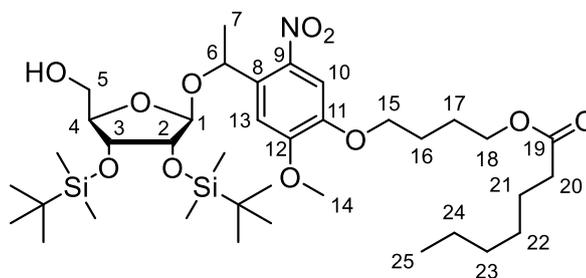
Darstellung von 4-(4-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **169**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(4-(1-(2,3,5-Tri-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **165** (624 mg, 715 μ mol) in 4 mL Tetrahydrofuran gelöst, auf 0 °C gekühlt und jeweils 1 mL Wasser und Trifluoressigsäure zugegeben. Der Ansatz wurde für zwei Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 6:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 77% (420 mg, 554 μ mol) eines gelben Öls als Gemisch aus zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₃₇H₆₇NO₁₁Si₂

Molare Masse: 758.1090 g/mol



169

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.29.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.56 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.17 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.10 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.52 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.90 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.54 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.33 (dd, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, ³J_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.24 (dd, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.18 – 4.12 (m, 4H, H-18, 2 ds), 4.11 – 4.06 (m, 4H, H-15, 2 ds), 4.03 (dt, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-4, 1 ds), 3.99 (t, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.98 – 3.93 (m, 1H, H-4, 1 ds), 3.97 (s, 6H, H-14, 2 ds), 3.90 – 3.84 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.64 (dd, ²J_{H,H} = 12.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.59 (dd, ²J_{H,H} = 12.1 Hz, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.36 (dd, ²J_{H,H} = 12.1 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.30 (t, ³J_{H,H} = 7.6 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 2.00 – 1.90 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.89 – 1.80 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.62 (p, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 4H, H-21, 2 ds), 1.52 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.48 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.37 – 1.24 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.90 – 0.86 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.90 (s, 18H, SiC(CH₃)₃, 2 ds), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.11 (s, 6H, SiCH₃), 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.13 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 174.1 (C-19, 1 ds), 174.0 (C-19, 1 ds), 154.2 (C-12, 1 ds), 154.1 (C-12, 1 ds), 147.5 (C-11, 1 ds), 147.3 (C-11, 1 ds), 140.7 (C-9, 1 ds), 139.2 (C-9, 1 ds), 135.4 (C-8, 1 ds), 134.4 (C-8, 1 ds), 109.2 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-10, 2 ds), 106.9 (C-1, 1 ds), 105.5 (C-1, 1 ds), 82.5 (C-4, 1 ds), 82.5 (C-4, 1 ds), 77.0 (C-2, 1 ds), 77.0 (C-2, 1 ds), 72.2 (C-6, 1 ds), 70.7 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-3, 1 ds), 70.3 (C-6, 1 ds), 69.1 (C-15, 1 ds), 69.0 (C-15, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 63.8 (C-18, 1 ds), 61.3 (C-5, 1 ds), 61.0 (C-5, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.3 (C-14, 1 ds), 34.5 (C-20, 2 ds), 31.6, 29.0, 22.6 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.9 (C-16, 2 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.5 (C-17, 2 ds), 25.1 (C-21, 2 ds), 24.1 (C-7, 1 ds), 23.4 (C-7, 1 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 18.2 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.1 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.6 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2929, 2857, 1736, 1579, 1520, 1464, 1388, 1361, 1336, 1273, 1217, 1165, 1117, 1088, 1023, 942, 875, 836, 812, 777, 673.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 780.4145 [M+Na]⁺, gef.: 780.4244 [M+Na]⁺.

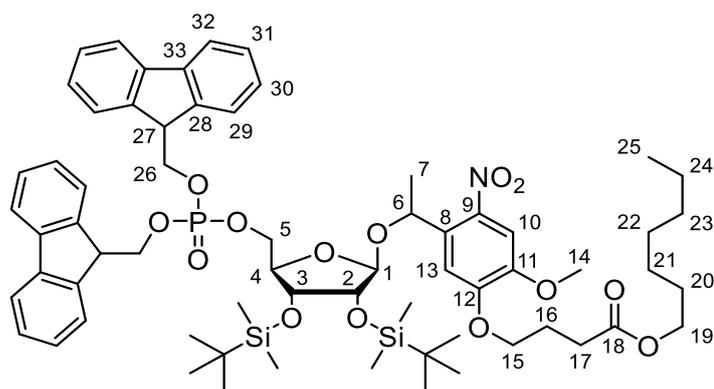
Darstellung von Heptyl-4-(5-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl)-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)-methoxy)phosphoryl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **172**

Es wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(5-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **168** (286 mg, 377 μ mol) und 1.2 Äquiv. Bis-*O*-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-*N,N*-diisopropylamino-phosphoramidit **91** (241 mg, 462 μ mol) in 10 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 2.0 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (142 mg, 735 μ mol) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1.8 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.12 mL, 0.66 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch wiederholte säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 80% (361 mg, 302 μ mol) eines gelblichen Harzes als Gemisch aus zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₆₅H₈₈NO₁₄PSi₂

Molare Masse: 1194.5558 g/mol



172

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.33.

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.79 – 7.65 (m, 8H, H-32, 2 ds), 7.61 – 7.43 (m, 8H, H-29, 2 ds), 7.52 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.45 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.40 – 7.29 (m, 8H, H-31, 2 ds), 7.27 – 7.20 (m, 8H, H-30, 2 ds), 7.15 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.06 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.56 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.47 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.89 (d, ³*J*_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.50 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.43 – 4.40 (m, 4H, H-19, 2 ds, H-27, 2 ds), 4.25 (dd, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.23 – 4.15 (m, 8H, H-19, 2 ds, H-27, 2 ds), 4.15 – 4.02 (m, 10H, H-4, 2 ds, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds, H-5/H5', 1 ds, H-27, 2 ds), 3.98 – 3.93 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-5, H-5', 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.89 (d, ³*J*_{H,H} = 3.9 Hz, 2H, H-2, 1 ds), 3.76 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.76 – 3.73 (m 1H, H-5/H-5', 1 ds), 2.58 – 2.46 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.19 (p, ³*J*_{H,H} = 6.7 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 2.13 (p, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 1.66 – 1.55 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.46 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.40 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.36 – 1.22 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.90 – 0.86 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds),

0.79 (s, 9H, SiC(CH₃)₃, 1 ds), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 6H, SiCH₃), 0.03 (s, 3H, SiCH₃), 0.02 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.12 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.2 (C-18, 1 ds), 173.1 (C-18, 1 ds), 153.1 (C-12, 1 ds), 153.1 (C-12, 1 ds), 148.3 (C-11, 1 ds), 148.0 (C-11, 1 ds), 143.3 (C-28/C-28', 1 ds), 143.3 (C-28/C-28', 1 ds), 143.3 (C-28/C-28', 1 ds), 143.2 (C-28/C-28', 1 ds), 141.6 (C-33/C-33', 1 ds), 141.5 (C-33/C-33', 1 ds), 141.4 (C-33/C-33', 1 ds), 141.4 (C-33/C-33', 1 ds), 141.1 (C-9, 1 ds), 139.5 (C-9, 1 ds), 135.2 (C-8, 1 ds), 134.3 (C-8, 1 ds), 128.0 (C-31/C-31', 1 ds), 127.9 (C-31/C-31', 1 ds), 127.9 (C-31/C-31', 1 ds), 127.9 (C-31/C-31', 1 ds), 127.3 (C-30/C-30', 1 ds), 127.2 (C-30/C-30', 1 ds), 127.2 (C-30/C-30', 2 ds), 125.4 (C-29/C-29', 1 ds), 125.3 (C-29/C-29', 1 ds), 125.3 (C-29/C-29', 1 ds), 125.3 (C-29/C-29', 1 ds), 120.1 (C-32/C-32', 1 ds), 120.1 (C-32/C-32', 1 ds), 120.0 (C-32/C-32', 1 ds), 120.0 (C-32/C-32', 1 ds), 120.0 (C-32/C-32', 1 ds), 110.4 (C-13, 1 ds), 110.0 (C-13, 1 ds), 105.9 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 80.7 (d, ³J_{C,P} = 7.3 Hz, H-4, 1 ds), 80.3 (d, ³J_{C,P} = 8.6 Hz, H-4, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 72.2 (C-3, 1 ds), 71.4 (C-3, 1 ds), 71.4 (C-6, 1 ds), 69.4 (C-6, 1 ds), 69.5 – 69.3 (m, C-26, 2 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 68.3 (C-15, 1 ds), 67.8 (C-5, 1 ds), 67.1 (C-5, 1 ds), 64.9 (C-19, 1 ds), 64.8 (C-19, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.2 (C-14, 1 ds), 48.2 – 47.9 (m, C-27, 2 ds), 31.9, 29.1, 25.9, 22.7 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 28.8 (C-16, 2 ds), 26.0 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 25.9 (SiC(CH₃)₃, 2 ds), 25.8 (SiC(CH₃)₃, 1 ds), 24.5 (C-20, 1 ds), 24.5 (C-20, 1 ds), 23.8 (C-7, 1 ds), 22.6 (C-7, 1 ds), 18.2 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 18.1 (Si(CH₃)₃, 1 ds), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0 (SiCH₃), -4.1 (SiCH₃), -4.3 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃), -4.9 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): -1.54 (s, 1 ds), -1.59 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2930, 2857, 1733, 1580, 1520, 1463, 1450, 1388, 1361, 1335, 1272, 1218, 1169, 1122, 1081, 1020, 993, 939, 871, 838, 778, 757, 741.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1216.5373 [M+Na]⁺, gef.: 1216.5383 [M+Na]⁺.

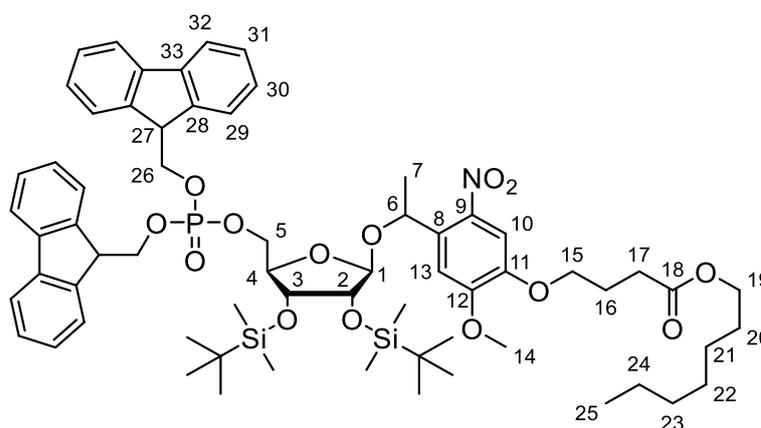
Darstellung von Heptyl-4-(4-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl)-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)-methoxy)phosphoryl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **171**

Es wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(4-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **167** (493 mg, 650 μ mol) und 1.7 Äquiv. Bis-*O*-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **91** (582 mg, 1.12 mmol) in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit 1.7 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (213 mg, 1.10 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1.7 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.20 mL, 1.1 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Dichlormethan verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch wiederholte säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 78% (605 mg, 506 μ mol) eines gelblichen Feststoffs als Gemisch aus zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₆₅H₈₈NO₁₄PSi₂

Molare Masse: 1194.5558 g/mol



171

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.49.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.74 – 7.65 (m, 8H, H-32, 2 ds), 7.61 – 7.55 (m, 2H, H-29, 1 ds), 7.53 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 – 7.42 (m, 6H, H-29, 2 ds), 7.45 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.40 – 7.29 (m, 8H, H-31, 2 ds), 7.29 – 7.19 (m, 8H, H-30, 2 ds), 7.18 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.06 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.57 (q, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.45 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.85 (d, ³*J*_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.53 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.44 – 4.39 (m, 2H, H-26, 2 ds), 4.25 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.23 – 4.14 (m, 7H, H-26, 2 ds, H-15, 2 ds, H-27, 2 ds), 4.14 – 4.00 (m, 9H, H-4, 2 ds, H-3, 1 ds, H-5, 1 ds, H-19, 2 ds, H-27, 1 ds), 4.00 – 3.91 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-5, 1 ds), 3.93 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 – 3.87 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-15, 1 ds), 3.85 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.82 – 3.74 (m, 1H, H-5, 1 ds), 2.54 (t, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-17, 1 ds), 2.49 – 2.41 (m, 2H, H-17, 1 ds), 2.18 (p, ³*J*_{H,H} = 6.8 Hz, 2H, H-16,

1 ds), 2.07 (p, $^3J_{H,H} = 6.8$ Hz, 2H, H-16, 1 ds), 1.67 – 1.55 (m, 4H, H-20, 2 ds), 1.46 (d, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.38 (d, $^3J_{H,H} = 6.2$ Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.36 – 1.23 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 0.91 – 0.84 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.05 (s, 3H, SiCH₃), 0.03 (s, 3H, SiCH₃), 0.02 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.11 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 173.1 (C-18, 1 ds), 173.1 (C-18, 1 ds), 154.1 (C-12, 1 ds), 154.0 (C-12, 1 ds), 147.3 (C-11, 1 ds), 147.0 (C-11, 1 ds), 143.5, 143.3, 143.3, 143.3, 143.2, 143.2 (C-28/C28', 2 ds), 141.6, 141.5, 141.5, 141.4, 141.4 (C-33/C33', 2 ds), 140.9 (C-9, 1 ds), 139.4 (C-9, 1 ds), 135.4 (C-8, 1 ds), 134.6 (C-8, 1 ds), 128.0, 127.9, 127.9 (C-31/C-31', 2 ds), 127.3, 127.2 (C-30/C-30', 2 ds), 125.4, 125.4, 125.3, 125.3, 125.2 (C-29/C-29', 2 ds), 120.1, 120.1, 120.1, 120.0 (C-32/C-32', 2 ds), 109.7 (C-13, 1 ds), 109.2 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-10, 2 ds), 106.3 (C-1, 1 ds), 104.8 (C-1, 1 ds), 80.6 (C-4, 2 ds), 76.5 (C-2, 2 ds), 72.1 (C-6, 1 ds), 72.0 (C-3, 1 ds), 71.4 (C-3, 1 ds), 69.6 – 69.1 (m, C-6, 1 ds, C-15, 2 ds, C-26, 2 ds, C-5, 2 ds), 65.0 (C-19, 1 ds), 64.9 (C-19, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 48.2 – 47.9 (m, C-27, 2 ds), 31.9, 29.0, 25.9, 22.7 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 30.8 (C-17, 1 ds), 28.8 (C-20, 2 ds), 26.0, 25.9, 25.8 (SiC(CH₃)₃), 24.5 (C-16, 1 ds), 24.4 (C-16, 1 ds), 23.8 (C-7, 1 ds), 22.9 (C-7, 1 ds), 18.2, 18.1, 18.1, 18.1 (SiC(CH₃)₃), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0, -4.2, -4.3, -4.4, -4.5, -4.8, -4.9 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): -1.6 (s, 2 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2927, 2856, 1733, 1588, 1508, 1471, 1450, 1389, 1360, 1273, 1253, 1221, 1168, 1103, 1079, 1015, 992, 938, 918, 869, 837, 778, 757, 740.

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 1216.5373 [M+Na]⁺, gef.: 1216.5110 [M+Na]⁺.

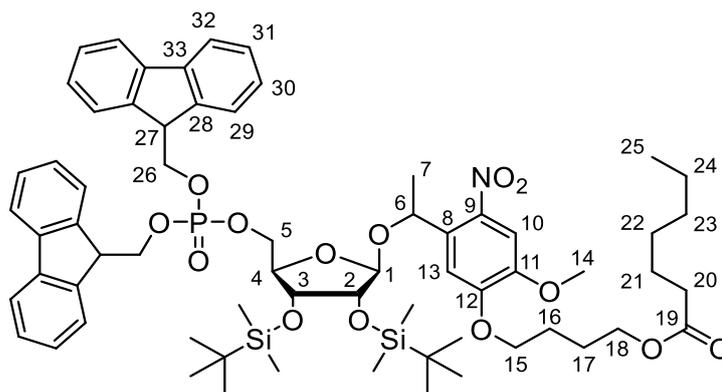
Darstellung von 4-(5-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)-phosphoryl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **174**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(5-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **170** (217 mg, 286 μ mol) und 1.5 Äquiv. Bis-O-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **91** (217 mg, 416 μ mol) in 10 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 3.8 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (208 mg, 1.08 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 2.3 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.12 mL, 0.66 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch wiederholte säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v).

Ausbeute: 47% (161 mg, 135 μ mol) eines gelblichen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₆₅H₈₈NO₁₄PSi₂

Molare Masse: 1194.5558 g/mol



174

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.67; 0.55.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.73 – 7.65 (m, 8H, H-32/H-32', 2 ds), 7.61 – 7.55 (m, 2H, H-29/H-29', 1 ds), 7.54 – 7.42 (m, 6H, H-29/H-29', 2 ds), 7.53 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.46 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.40 – 7.27 (m, 8H, H-31/H-31', 2 ds), 7.27 – 7.19 (m, 8H, H-30/H-30', 2 ds), 7.14 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.05 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.57 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.46 (q, ³*J*_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.88 (d, ³*J*_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.51 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.41 (t, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, 2H, H-26, 1 ds), 4.25 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.23 – 4.12 (m, 8H, H-5, 1 ds, H-15, 2 ds, H-18, 1 ds, H-27, 1 ds), 4.12 – 4.00 (m, 8H, H-5, 1 ds, H-4, 1 ds, H-3, 1 ds, H-26, 1 ds, H-18, 1 ds, H-27, 1 ds), 3.99 – 3.90 (m, 2H, H-5, 1 ds, H-2, 1 ds), 3.91 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.88 (d, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.79 – 3.72 (m, 1H, H-5, 1 ds), 3.77 (s, 3H, H-14, 1 ds), 2.29 (t, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 2.25 (t, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 1.99 – 1.73 (m, 8H, H-17/H16, 2 ds), 1.67 – 1.51 (m, 4H, H-21, 2 ds), 1.35 – 1.22 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.40 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 0.92 – 0.83 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 297

0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.05 (s, 3H, SiCH₃), 0.03 (s, 3H, SiCH₃), 0.02 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.12 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃, 300 K): 174.0 (C-19, 2 ds), 153.2 (C-12, 2 ds), 148.3 (C-11, 1 ds), 148.0 (C-11, 1 ds), 143.5, 143.3, 143.3, 143.2, 143.2 (C-28/C28', 2 ds), 141.6, 141.5, 141.5, 141.4 (C-33/C-33', 2 ds), 141.0 (C-9, 1 ds), 139.5 (C-9, 1 ds), 135.2 (C-8, 1 ds), 134.3 (C-8, 1 ds), 128.0, 127.9 (C-31/C-31', 2 ds), 127.3, 127.2 (C-30/C-30', 2 ds), 125.4, 125.4, 125.3, 125.3 (C-29/C-29', 2 ds), 120.1, 120.1, 120.1, 120.0 (C-32/C-32', 2 ds), 110.3 (C-13, 1 ds), 109.9 (C-13, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 108.0 (C-10, 1 ds), 106.0 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 80.7 (C-4, 2 ds), 76.5 (C-2, 1 ds), 76.4 (C-2, 1 ds), 72.2 (C-3, 1 ds), 71.5 (C-6, 1 ds), 71.4 (C-3, 1 ds), 69.5 – 68.9 (m, C-6, 1 ds, C-15, 2 ds, C-26, 2 ds), 67.8 – 67.7 (m, C-5, 1 ds), 67.1 – 67.0 (m, C-5, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 63.8 (C-18, 1 ds), 56.5 (C-14, 1 ds), 56.3 (C-14, 1 ds), 48.2 – 47.9 (m, C-27, 2 ds), 34.5 (C-20, 1 ds), 34.4 (C-20, 1 ds), 31.6, 29.0, 22.6 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 25.9, 25.9, 25.8 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (C-16, 1 ds), 25.6 (C-16, 1 ds), 25.5 (C-17, 2 ds), 25.1 (C-21, 1 ds), 25.1 (C-21, 1 ds), 23.8 (C-7, 1 ds), 22.7 (C-7, 1 ds), 18.2, 18.1, 18.1, 18.1 (SiC(CH₃)₃), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0, -4.1, -4.3, -4.4, -4.4, -4.5, -4.8, -4.9 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃, 300 K): -1.6 (s, 1 ds), -1.6 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2929, 2856, 1733, 1580, 1519, 1463, 1450, 1388, 1361, 1334, 1270, 1217, 1167, 1120, 1103, 1079, 1016, 991, 939, 910, 871, 837, 798, 777, 757, 739, 672, 621, 514.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1216.5373 [M+Na]⁺, gef.: 1216.5276 [M+Na]⁺.

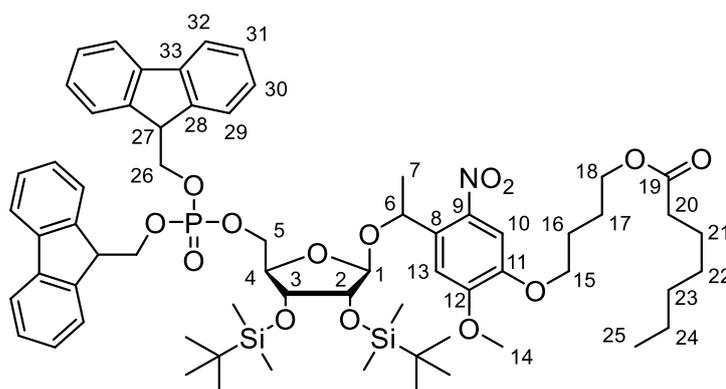
Darstellung von 4-(4-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)phosphoryl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **173**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(4-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **169** (404 mg, 533 μ mol) und 2.2 Äquiv. Bis-*O*-(9*H*-fluoren-9-ylmethyl)-*N,N*-diisopropylamino-phosphoramidit **91** (605 mg, 1.16 mmol) in 20 mL Dichlormethan gelöst und mit 1.8 Äquiv. Pyridiniumtrifluoracetat (189 mg, 979 μ mol) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 2.1 Äquiv. *tert*-Butylhydroperoxid (5.5 M in *n*-Decan, 0.20 mL, 1.1 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch wiederholte säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE/EE 2:1 *v/v*).

Ausbeute: 73% (464 mg, 388 μ mol) eines gelben Harzes als Gemisch aus zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₆₅H₈₈NO₁₄PSi₂

Molare Masse: 1194.5558 g/mol



173

DC: *R_f*-Wert (PE/EE 2:1 *v/v*): 0.60.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃, 300 K): 7.73 – 7.65 (m, 8H, H-32/H-32', 2 ds), 7.60 – 7.55 (m, 2H, H-29/H-29', 1 ds), 7.54 – 7.41 (m, 6H, H-29/H-29', 2 ds), 7.52 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.44 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.39 – 7.29 (m, 8H, H-31/H-31', 2 ds), 7.28 – 7.19 (m, 8H, H-30/H-30', 2 ds), 7.19 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.07 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.57 (q, ³*J*_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.46 (q, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.86 (d, ³*J*_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.53 (s, 1H, H-1, 1 ds), 4.43 – 4.40 (m, 2H, H-26, 2 ds), 4.26 (dd, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.23 – 4.12 (m, 6H, H-5, 1 ds, H-26, 2 ds, H-27, 1 ds, H-18, 1 ds), 4.12 – 3.99 (m, 11H, H-4, 2 ds, H-3, 1 ds, H-15, 2 ds, H-5, 1 ds, H-18, 1 ds, H-27, 1 ds), 3.99 – 3.91 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-5, 1 ds), 3.93 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.88 (d, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-2, 1 ds), 3.86 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.81 – 3.75 (m, 1H, H-5, 1 ds), 2.30 (t, ³*J*_{H,H} = 8.2 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 2.28 (t, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, 2H, H-20, 1 ds), 1.98 – 1.91 (m, 2H, H-16/H-17, 1 ds), 1.87 – 1.78 (m, 4H, H-16/H-17, 2 ds), 1.77 – 1.70 (m, 2H, H-16/H-17, 1 ds), 1.66 – 1.57 (m, 4H, H-21, 2 ds), 1.47 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.39 (d, ³*J*_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.35 – 1.23 (m, 12H, H-22, H-23, 299

H-24, 2 ds), 0.91 – 0.85 (m, 6H, H-25, 2 ds), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.80 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃), 0.05 (s, 3H, SiCH₃), 0.03 (s, 3H, SiCH₃), 0.02 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.11 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl₃, 300 K): 174.0 (C-19, 1 ds), 174.0 (C-19, 1 ds), 154.0 (C-12, 1 ds), 154.0 (C-12, 1 ds), 147.3 (C-11, 1 ds), 147.1 (C-11, 1 ds), 143.5, 143.3, 143.3, 143.3, 143.3, 143.2, 143.2, 143.2 (C-28/C-28', 2 ds), 141.6, 141.6, 141.5, 141.5, 141.4, 141.4 (C-33/C-33', 2 ds), 140.9 (C-9, 1 ds) 139.4 (C-9, 1 ds), 135.4 (C-8, 1 ds), 134.5 (C-8, 1 ds), 128.0, 127.9, 127.9 (C-31/C-31', 2 ds), 127.3, 127.2 (C-30/C-30', 2 ds), 125.4, 125.4, 125.3, 125.3, 125.3, 125.3, 125.2 (C-29/C-29', 2 ds), 120.1, 120.1, 120.1, 120.0 (C-32/C-32', 2 ds), 109.6 (C-13, 1 ds), 109.0 (C-10, 1 ds, C-13, 1 ds), 108.8 (C-10, 1 ds), 106.3 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 80.7 (C-4, 1 ds), 80.3 (C-4, 1 ds), 76.5 (C-2, 2 ds), 72.1 (C-3, 1 ds), 72.0 (C-6, 1 ds), 71.4 (C-3, 1 ds), 69.5 – 68.8 (m, C-6, 1 ds, C-26, 2 ds, C-15, 2 ds), 67.7 – 67.6 (m, C-5, 1 ds), 67.1 – 67.0 (m, C-5, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 63.9 (C-18, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 56.4 (C-14, 1 ds), 48.2 – 47.9 (m, C-27, 2 ds), 34.5 (C-20, 1 ds), 34.5 (C-20, 1 ds), 31.6, 29.0, 22.6 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 25.9, 25.9, 25.7, 25.4 (SiC(CH₃)₃), 25.8, 25.8, 25.5 (C16, C-17, 2 ds), 25.1 (C-21, 2 ds), 23.8 (C-7, 1 ds), 22.9 (C-7, 1 ds), 18.2, 18.1, 18.1, 18.1 (SiC(CH₃)₃), 14.2 (C-25, 2 ds), -4.0, -4.2, -4.3, -4.4, -4.4, -4.5, -4.8, -4.9 (SiCH₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃, 300 K): -0.3 (s, 1 ds), -0.3 (s, 1 ds).

IR (ATR): Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2953, 2930, 2857, 1734, 1581, 1519, 1471, 1450, 1388, 1361, 1336, 1273, 1218, 1168, 1104, 1079, 1018, 940, 872, 838, 812, 778, 758, 741.

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 1216.5373 [M+Na]⁺, gef.: 1216.5408 [M+Na]⁺.

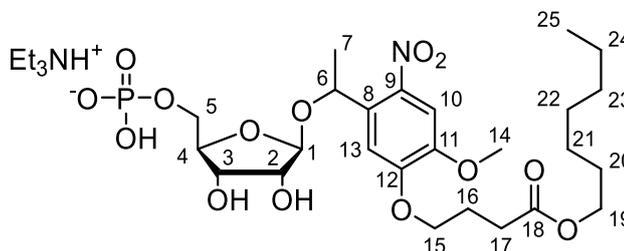
Darstellung von Heptyl-4-(5-(1-(5-phosphoryl- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat 176

Es wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(5-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)phosphoryl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **172** (351 mg, 294 μ mol) in 3 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 14.7 Äquiv. Triethylamin (0.60 mL, 4.3 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 9.0 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 0.43 mL, 2.6 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbrechen der Reaktion wurden überschüssige Fluorid-Reagenzien durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (0.1 M) aufgenommen und die Suspension anschließend lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 48% (103 mg, 141 μ mol) eines gelblichen Harzes als Gemisch aus zwei Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.2 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₅H₄₀NO₁₄P

Molare Masse: 609.5618 g/mol



176

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.18 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.15 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.26 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.22 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.82 (d, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.40 (d, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.20 – 4.10 (m, 4H, H-15, 2 ds), 4.03 – 3.99 (m, 4H, H-19, 2 ds), 3.97 (dd, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.90 (dd, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.87 – 3.84 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.86 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.84 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.81 – 3.76 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5_{a1}, 1 ds), 3.69 (ddd, ²J_{H,H} = 10.9 Hz, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,P} = 6.1 Hz, 1H, H-5_{b1}, 1 ds), 3.52 – 3.46 (m, 1H, H-5_{a2}, 1 ds), 3.40 – 3.35 (m, 1H, H-5_{b2}, 1 ds), 2.86 (brs, N(CH₂CH₃)₃), 2.52 – 2.46 (m, 4H, H-17, 2 ds), 2.05 – 1.99 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.55 (p, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.41 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.39

(d, $^3J_{H,H} = 6.2$ Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.30 – 1.19 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 1.11 (t, $N(\underline{C}H_2\underline{C}H_3)_3$), 0.84 (t, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, 6H, H-25, 2 ds).

^{13}C -NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 172.6 (C-18, 1 ds), 172.4 (C-18, 1 ds), 152.6 (C-12, 1 ds), 152.4 (C-12, 1 ds), 147.7 (C-11, 1 ds), 147.4 (C-11, 1 ds), 140.3 (C-9, 1 ds), 138.9 (C-9, 1 ds), 134.8 (C-8, 1 ds), 133.5 (C-8, 1 ds), 110.4 (C-13, 1 ds), 109.9 (C-13, 1 ds), 107.7 (C-10, 1 ds), 107.5 (C-10, 1 ds), 106.4 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 82.2 (C-4, 1 ds), 81.9 (C-4, 1 ds), 75.1 (C-2, 1 ds), 74.5 (C-2, 1 ds), 72.3 (C-3, 1 ds), 71.9 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-6, 1 ds), 68.9 (C-6, 1 ds), 67.8 (C-15, 2 ds), 66.2 (C-5, 1 ds), 65.7 (C-5, 1 ds), 63.9 (C-19, 1 ds), 63.9 (C-19, 1 ds), 56.1 (C-14, 1 ds), 56.0 (C-14, 1 ds), 45.2 ($N(\underline{C}H_2\underline{C}H_3)_3$), 31.1, 28.3, 25.3, 22.0 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 30.1 (C-17, 2 ds), 28.1 (C-20, 2 ds), 24.2 (C-16, 1 ds), 24.0 (C-16, 1 ds), 23.4 (C-7, 1 ds), 22.7 (C-7, 1 ds), 13.9 (C-25, 2 ds), 9.2 ($N(\underline{C}H_2\underline{C}H_3)_3$).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 0.0 (s, 1 ds), -0.1 (s, 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, m/z): ber.: 632.2079 [M+Na]⁺, gef.: 632.2117 [M+Na]⁺.

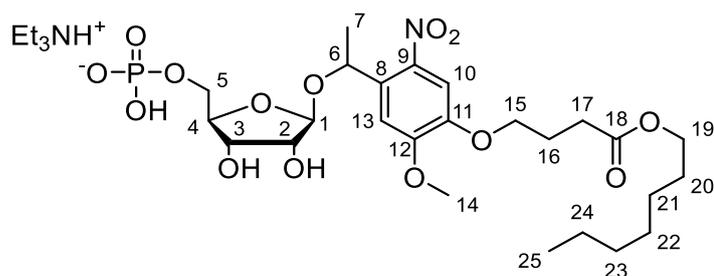
Darstellung von Heptyl-4-(4-(1-(5-phosphoryl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitro-phenoxy)butyrat 175

Es wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(4-(1-(2,3-di-*tert*-butyldimethylsilyl-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)phosphoryl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **171** (593 mg, 496 μ mol) in 5 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 20.2 Äquiv. Triethylamin (1.4 mL, 10 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 9.2 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 0.75 mL, 4.6 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbrechen der Reaktion wurden überschüssige Fluorid-Reagenzien durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (0.1 M) aufgenommen und die Suspension anschließend lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH_3CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 40% (141 mg, 198 μ mol) eines grünlichen Harzes als Gemisch aus zwei Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.0 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₅H₄₀NO₁₄P

Molare Masse: 609.5618 g/mol



175

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CD₃CN, 300 K): 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.53 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.23 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.21 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.40 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.34 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.96 (d, ³J_{H,H} = 1.0 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.55 (d, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.23 (t, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.13 (dd, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.10 – 4.01 (m, 8H, H-15, H-19, 2 ds), 4.01 – 3.97 (m, 6H, H-2, 2 ds, H-4, 2 ds, H-5, 2 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.64 (ddd, ²J_{H,H} = 11.0 Hz, ³J_{H,P} = 11.0 Hz, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.55 (ddd, ²J_{H,H} = 10.7 Hz, ³J_{H,P} = 10.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.00 (q, N(CH₂CH₃)₃), 2.46 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 4H, H-17, 2 ds), 2.05 (p, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 4H, H-16, 2 ds), 1.59 (p, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.46 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.44 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.36 – 1.25 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 1.22 (t, N(CH₂CH₃)₃), 0.87 (t, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 6H, H-25, 2 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CD₃CN, 300 K): 173.8 (C-18, 1 ds), 173.8 (C-18, 1 ds), 155.2 (C-12, 1 ds), 154.9 (C-12, 1 ds), 148.1 (C-11, 1 ds), 147.9 (C-11, 1 ds), 141.5 (C-9, 1 ds), 140.2 (C-9, 1 ds), 136.6 (C-8, 1 ds), 135.4 (C-8, 1 ds), 111.1 (C-13, 1 ds), 110.4 (C-13, 1 ds), 109.9 (C-10, 1 ds), 109.7 (C-10, 1 ds), 107.6 (C-1, 1 ds), 106.1 (C-1, 1 ds), 83.2 (C-4, 1 ds), 83.1 (C-4, 1 ds), 76.7 (C-2, 1 ds), 76.3 (C-2, 1 ds), 73.4 (C-3, 1 ds), 72.9 (C-3, 1 ds), 72.3 (C-6, 1 ds), 70.7 (C-6, 1 ds), 69.2 (C-15, 2 ds), 67.3 (C-5, 2 ds), 65.2 (C-19, 2 ds), 57.2 (C-14, 1 ds), 57.1 (C-14, 1 ds), 46.7 (N(CH₂CH₃)₃), 32.5, 29.6, 29.6, 26.6, 23.3 (C-21, C-22, C-23, C-24, 2 ds), 31.3 (C-17, 2 ds), 29.4 (C-20, 1 ds), 29.4 (C-20, 1 ds), 25.3 (C-16, 1 ds), 25.3 (C-16, 1 ds), 24.0 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 14.3 (C-25, 2 ds), 9.0 (N(CH₂CH₃)₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CD₃CN, 300 K): 0.9 (s, 1 ds), 0.9 (s, 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 632.2079 [M+Na]⁺, gef.: 632.2096 [M+Na]⁺.

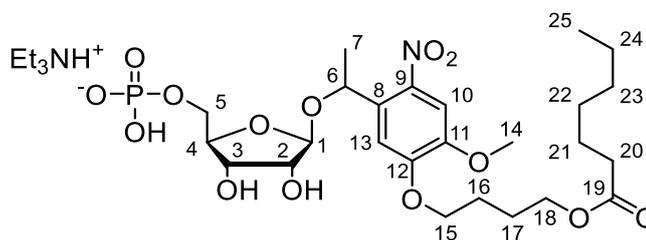
Darstellung von 4-(5-(1-(5-Phosphoryl- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **178**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(5-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)-phosphoryl)- β -D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butylheptanoat **174** (148 mg, 124 μ mol) in 3 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 17.4 Äquiv. Triethylamin (0.30 mL, 2.2 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 9.9 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 0.20 mL, 1.2 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbrechen der Reaktion wurden überschüssige Fluorid-Reagenzien durch Zugabe von Kieselgel gequencht. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (0.1 M) aufgenommen und die Suspension anschließend lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 24% (21 mg, 30 μ mol) eines gelblich-orangen Harzes als Gemisch aus zwei Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 0.9 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₅H₄₀NO₁₄P

Molare Masse: 609.5618 g/mol



178

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 7.57 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.54 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.19 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.16 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.27 (q, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.23 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.82 (d, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.41 (d, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.18 – 4.11 (m, 4H, H-15, 2 ds), 4.10 – 4.06 (m, 4H, H-18, 2 ds), 3.97 (t, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.89 (dd, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 3.87 – 3.83 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.85 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.84 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.82 – 3.77 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5, 1 ds), 3.70 (ddd, ²J_{H,H} = 10.8 Hz, ³J_{H,P} = 7.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.51 (ddd, ²J_{H,H} = 10.3 Hz, ³J_{H,P} = 10.3 Hz, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.39 (ddd, ²J_{H,H} = 10.9 Hz, ³J_{H,P} = 9.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 2.93 (brs, N(CH₂CH₃)₃), 2.27 (t, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.84 – 1.78 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.77 – 1.70 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.50 (p, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 4H, H-21, 2 ds), 1.41 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.39 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.28 – 1.19 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 1.14 (t, N(CH₂CH₃)₃), 0.84 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 6H, H-25, 2 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): 172.9 (C-19, 2 ds), 152.7 (C-12, 1 ds), 152.5 (C-12, 1 ds), 147.7 (C-11, 1 ds), 147.4 (C-11, 1 ds), 140.2 (C-9, 1 ds), 138.8 (C-9, 1 ds), 134.9 (C-8, 1 ds), 133.5 (C-8, 1 ds), 110.4 (C-13, 1 ds), 109.8 (C-13, 1 ds), 107.6 (C-10, 1 ds), 107.5 (C-10, 1 ds), 106.3 (C-1, 1 ds), 104.7 (C-1, 1 ds), 82.2 (C-4, 1 ds), 81.8 (C-4, 1 ds), 75.1 (C-2, 1 ds), 74.5 (C-2, 1 ds), 72.2 (C-3, 1 ds), 71.8 (C-3, 1 ds), 70.6 (C-6, 1 ds), 69.1 (C-6, 1 ds), 68.4 (C-15, 1 ds), 68.3 (C-15, 1 ds), 66.2 (m, C-5, 1 ds), 65.8 (m, C-5, 1 ds), 63.5 (C-18, 1 ds), 63.4 (C-18, 1 ds), 56.1 (C-14, 1 ds), 56.0 (C-14, 1 ds), 45.2 (N(CH₂CH₃)₃), 33.5 (C-20, 2 ds), 30.9, 28.1, 21.9 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 25.2 (C-16, 2 ds), 25.1 (C-17, 2 ds), 24.9 (C-21, 1 ds), 24.4 (C-21, 1 ds), 23.4 (C-7, 1 ds), 22.6 (C-7, 1 ds), 13.9 (C-25, 2 ds), 8.8 (N(CH₂CH₃)₃).

³¹P-NMR: δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): -0.1 (s, 1 ds), -0.1 (s, 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 632.2079 [M+Na]⁺, gef.: 632.2062 [M+Na]⁺.

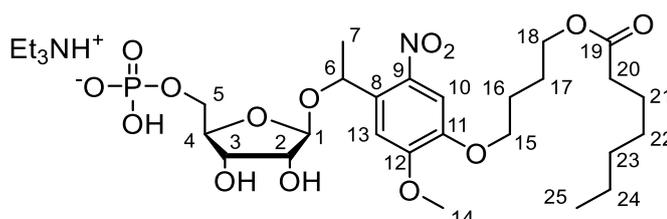
Darstellung von 4-(4-(1-(5-Phosphoryl- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **177**

Es wurden 1.0 Äquiv. 4-(4-(1-(2,3-Di-*tert*-butyldimethylsilyl-5-(bis(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)-phosphoryl)- β -D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **173** (451 mg, 378 μ mol) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 19.0 Äquiv. Triethylamin (1.0 mL, 7.2 mmol) versetzt. Der Ansatz für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 9.0 Äquiv. Triethylamin-Trihydrofluorid (37%, 0.55 mL, 3.4 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbrechen der Reaktion wurden überschüssige Fluorid-Reagenzien durch Zugabe von Kieselgel gequenchet. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (0.1 M) aufgenommen und die Suspension anschließend lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB \rightarrow 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Ausbeute: 29% (80 mg, 0.11 mmol) eines grünlichen Harzes als Gemisch aus zwei Diastereomeren. Das Produkt wurde als Triethylammoniumsalz mit 1.1 Äquiv. Triethylammonium erhalten. Für die restlichen Gegenionen wurden Protonen zur Berechnung des Molekulargewichts angenommen.

Summenformel: C₂₅H₄₀NO₁₄P

Molare Masse: 609.5618 g/mol



173

¹H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CD₃CN, 300 K): 7.55 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.53 (s, 1H, H-10, 1 ds), 7.26 (s, 1H, H-13, 1 ds), 7.21 (s, 1H, H-13, 1 ds), 5.39 (q, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 5.34 (q, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-6, 1 ds), 4.96 (d, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.55 (d, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-1, 1 ds), 4.22 (t, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.13 (dd, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-3, 1 ds), 4.11 – 4.04 (m, 8H, H-15, 2 ds, H-18, 2 ds), 4.00 – 3.97 (m, 2H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds), 3.97 – 3.91 (m, 3H, H-2, 1 ds, H-4, 1 ds, H-5, 1 ds), 3.94 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.92 (s, 3H, H-14, 1 ds), 3.91 – 3.85 (m, 1H, H-5, 1 ds), 3.65 (ddd, ²J_{H,H} = 10.9 Hz, ³J_{H,P} = 10.9 Hz, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 3.55 (ddd, ²J_{H,H} = 10.7 Hz, ³J_{H,P} = 10.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-5, 1 ds), 2.95 (q, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, N(CH₂CH₃)₃), 2.27 (t, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 4H, H-20, 2 ds), 1.88 – 1.81 (m, 4H, H-16, 2 ds), 1.80 – 1.74 (m, 4H, H-17, 2 ds), 1.56 (p, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 4H, H-21, 2 ds), 1.45 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.43 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, H-7, 1 ds), 1.33 – 1.24 (m, 12H, H-22, H-23, H-24, 2 ds), 1.19 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, N(CH₂CH₃)₃), 0.87 (t, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 6H, H-25, 2 ds).

¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CD₃CN, 300 K): 174.4 (C-19, 1 ds), 174.4 (C-19, 1 ds), 155.1 (C-12, 1 ds), 154.8 (C-12, 1 ds), 148.2 (C-11, 1 ds), 148.0 (C-11, 1 ds), 141.5 (C-9, 1 ds), 140.2 (C-9, 1 ds), 136.4 (C-8, 1 ds), 135.3 (C-8, 1 ds), 111.0 (C-13, 1 ds), 110.3 (C-13, 1 ds), 109.7 (C-10, 1 ds), 109.5 (C-10, 1 ds), 107.7 (C-1, 1 ds), 106.1 (C-1, 1 ds), 83.6 (d, ³J_{C,P} = 5.3 Hz, C-4, 1 ds), 83.1 (d, ³J_{C,P} = 5.5 Hz, C-4, 1 ds), 76.7 (C-2, 1 ds), 76.2 (C-2, 1 ds), 73.3 (C-3, 1 ds), 72.9 (C-3, 1 ds), 72.3 (C-6, 1 ds), 70.6 (C-6, 1 ds), 69.7 (C-15, 1 ds), 69.7 (C-15, 1 ds), 67.5 (d, ²J_{C,P} = 5.7 Hz, C-5, 1 ds), 67.3 (d, ²J_{C,P} = 5.7 Hz, C-5, 1 ds), 64.6 (C-18, 1 ds), 64.5 (C-18, 1 ds), 57.2 (C-14, 1 ds), 57.1 (C-14, 1 ds), 46.6 (N(CH₂CH₃)₃), 34.8 (C-20, 2 ds), 32.2, 29.5, 23.2 (C-22, C-23, C-24, 2 ds), 26.4 (C-16, 1 ds), 26.4 (C-16, 1 ds), 26.1 (C-17, 1 ds), 26.1 (C-17, 1 ds), 25.7 (C-21, 2 ds), 24.0 (C-7, 1 ds), 23.1 (C-7, 1 ds), 14.3 (N(CH₂CH₃)₃), 9.2 (C-25, 2 ds).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CD₃CN, 300 K): 2.2 (s, 1 ds), 2.1 (s, 1 ds).

HRMS: (ESI⁺, *m/z*): ber.: 610.2259 [M+H]⁺, gef.: 610.2256 [M+H]⁺.

Darstellung von 1''-O-β-(1-(4-Methoxy-2-nitro-5-oxy-(4-butanoyl(heptyl))-phenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose 180

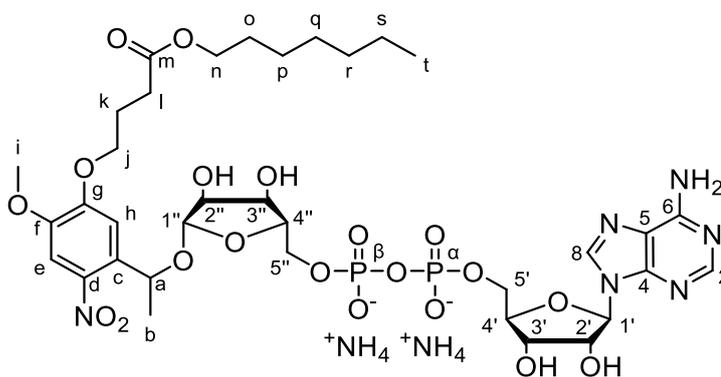
Es wurden 2.1 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (110 mg, 293 μmol) vorgelegt, in 3 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 29.8 Äquiv. Triethylamin (0.59 mL, 4.2 mmol) und 29.8 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.59 mL, 4.2 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 3 mL abs. Acetonitril gelöst. Der Ansatz wurde erneut auf 0 °C gekühlt, 31.8 Äquiv. Triethylamin (0.63 mL, 4.5 mmol) und 12.3 Äquiv. Methylimidazol (0.14 mL, 1.8 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(5-(1-(5-phosphoryl-β-D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **176** (1.2 Äquiv. Et₃NH⁺, 104 mg, 142 μmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 40% (55 mg, 57 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₃₅H₅₂N₆O₂₀P₂

Molare Masse: 938.7705 g/mol



180

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 8.43 (s, H-8, 1 ds), 8.41 (s, H-8, 1 ds), 8.15 (s, H-2, 1 ds), 8.14 (s, H-2, 1 ds), 7.56 (s, H-e, 1 ds), 7.54 (s, H-e, 1 ds), 7.26 (brs, $^+\text{NH}_4$), 7.22 (s, H-h, 1 ds), 7.14 (s, H-h, 1 ds), 5.92 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 4.8$ Hz, H-1', 1 ds), 5.91 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 4.6$ Hz, H-1', 1 ds), 5.30 – 5.21 (m, H-a, 2 ds), 4.79 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.2$ Hz, H-1'', 1 ds), 4.52 – 4.46 (m, H-2', 2 ds), 4.40 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.2$ Hz, H-1'', 1 ds), 4.32 – 4.25 (m, H-3', 2 ds), 4.19 – 4.09 (m, H-3'', 1 ds, H-j, 2 ds), 4.08 – 3.96 (m, H-3'', 1 ds, H-n, 2 ds), 3.93 – 3.79 (m, H-2'', 2 ds, H-5'/H-5'', 1 ds), 3.85 (s, H-i, 1 ds), 3.84 (s, H-i, 1 ds), 3.77 – 3.59 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 2.53 – 2.43 (m, H-l, 2 ds), 2.07 – 1.96 (m, H-k, 2 ds), 1.59 – 1.48 (m, H-o, 2 ds), 1.41 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, H-1', 1 ds), 1.38 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, H-1', 1 ds), 1.31 – 1.16 (m, H-p, H-q, H-r, H-s, 2 ds), 0.87 – 0.80 (m, H-t, 2 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 172.4 (C-m), 155.8 (C-6), 152.6 (C-g), 152.4 (C-2), 149.4 (C-4), 147.7, 147.4 (C-f), 140.1, 139.1 (C-d), 138.8 (C-8), 134.6, 133.6 (C-c), 118.8 (C-5), 110.4, 109.8 (C-h), 107.7 (C-e), 106.6, 104.6 (C-1''), 87.0 (C-1'), 83.3 (C-4'), 81.5, 81.4 (C-4''), 75.0, 74.3 (C-2''), 73.9 (C-2'), 70.8, 70.8 (C-3''), 70.4, 68.9 (C-a), 69.9 (C-3'), 67.8 (C-j), 66.2 (C-5'/C-5''), 65.9 (C-5'/C-5''), 63.9 (C-n), 56.0 (C-i), 31.1, 28.3, 25.3, 22.0 (C-p, C-q, C-r, C-s), 30.1 (C-l), 28.1 (C-o), 24.0 (C-k), 23.4, 22.6 (C-b), 13.9 (C-t).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): -11.5 – -11.3 (m, 2P, 2 ds).

HRMS: (ESI $^+$, m/z): ber.: 939.2784 [M+H] $^+$, gef.: 939.2726 [M+H] $^+$.

Darstellung von 1''-O-β-(1-(5-Methoxy-2-nitro-4-oxy-(4-butanoyl(heptyl))-phenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose 179

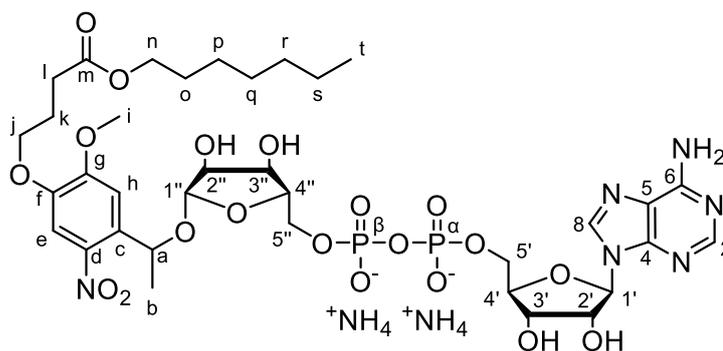
Es wurden 2.1 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (150 mg, 400 μmol) vorgelegt, in 2 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 30.4 Äquiv. Triethylamin (0.81 mL, 5.8 mmol) und 30.4 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.81 mL, 5.8 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 2 mL abs. Acetonitril gelöst. Der Ansatz wurde erneut auf 0 °C gekühlt, 32.6 Äquiv. Triethylamin (0.87 mL, 6.2 mmol) und 12.5 Äquiv. Methylimidazol (0.19 mL, 2.4 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(4-(1-(5-phosphoryl-β-D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butyrat **175** (1.0 Äquiv. Et₃NH⁺, 138 mg, 191 μmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 39% (72 mg, 74 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₃₅H₅₂N₆O₂₀P₂

Molare Masse: 938.7705 g/mol



179

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomerengemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 8.44 (s, H-8, 1 ds), 8.43 (s, H-8, 1 ds), 8.15 (s, H-2, 1 ds), 8.15 (s, H-2, 1 ds), 7.55 (s, H-e, 1 ds), 7.54 (s, H-e, 1 ds), 7.28 (brs, $^+\text{NH}_4$), 7.27 (s, H-h, 1 ds), 7.16 (s, H-h, 1 ds), 5.92 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.2$ Hz, H-1', 1 ds), 5.91 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$ Hz, H-1', 1 ds), 5.27 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-a, 1 ds), 5.25 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, H-a, 1 ds), 4.79 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, H-1'', 1 ds), 4.48 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 4.8$ Hz, H-2', 2 ds), 4.42 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, H-1'', 1 ds), 4.32 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 4.5$ Hz, H-3', 1 ds), 4.28 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 4.5$ Hz, H-3', 1 ds), 4.13 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 5.2$ Hz, H-3'', 1 ds), 4.09 – 3.97 (m, H-3'', 1 ds, H-4', 2 ds, H-j, 2 ds, H-n, 2 ds), 3.93 – 3.85 (m, H-5', 1 ds, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds), 3.91 (s, H-i, 1 ds), 3.89 (s, H-i, 1 ds), 3.84 – 3.81 (m, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds), 3.78 – 3.71 (m, H-5'', 1 ds), 3.67 – 3.62 (m, H-5'', 1 ds), 2.46 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.4$ Hz, H-l, 2 ds), 1.99 (p, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, H-k, 2 ds), 1.58 – 1.52 (m, H-o, 2 ds), 1.41 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, H-b, 1 ds), 1.38 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, H-b, 1 ds), 1.31 – 1.18 (m, H-p, H-q, H-r, H-s, 2 ds), 0.86 – 0.81 (m, H-t, 2 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 172.5, 172.4 (C-m), 155.9 (C-6), 153.5, 153.3 (C-g), 152.5 (C-2), 149.4 (C-4), 146.6, 146.4 (C-f), 140.1, 138.9 (C-d), 138.9 (C-8), 134.9, 133.8 (C-c), 118.7 (C-5), 110.0, 109.3 (C-h), 108.5, 108.4 (C-e), 106.9, 104.7 (C-1''), 87.1 (C-1'), 83.2 (C-4'), 81.7, 81.4 (C-4''), 75.0, 74.4 (C-2''), 74.1, 74.0 (C-2'), 71.4, 69.1 (C-a), 70.9, 70.7 (C-3''), 69.8 (C-3'), 67.8 (C-j), 66.0 (C-5', C-5''), 63.9 (C-n), 56.3, 56.1 (C-i), 31.1 (C-l), 30.0, 28.3, 25.3, 22.0 (C-p, C-q, C-r, C-s), 28.1 (C-o), 24.1 (C-k), 23.4, 22.8 (C-b), 13.9 (C-t).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 11.6 – 12.0 (m, P_β , 2 ds), 12.0 – 12.3 (m, P_α , 2 ds).

HRMS: (ESI $^+$, m/z): ber.: 939.2784 [M+H] $^+$, gef.: 939.2748 [M+H] $^+$.

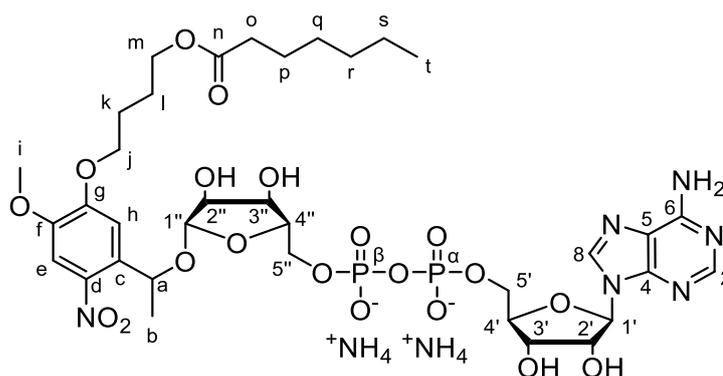
Versuch der Darstellung von 1''-O-β-(1-(4-Methoxy-2-nitro-5-oxy-(4-oxy-butyl(heptanoyl))-phenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose 182

Es wurden 2.1 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (19 mg, 49 µmol) vorgelegt, in 1.5 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 31.1 Äquiv. Triethylamin (0.10 mL, 0.72 mmol) und 31.2 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.10 mL, 0.72 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 1.5 mL abs. Acetonitril gelöst. Der Ansatz wurde erneut auf 0 °C gekühlt, 31.1 Äquiv. Triethylamin (0.10 mL, 0.72 mmol) und 10.9 Äquiv. Methylimidazol (0.02 mL, 0.25 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. Heptyl-4-(5-(1-(5-phosphoryl-β-D-ribofuranylethyl)-2-methoxy-4-nitrophenoxy)butyrat **178** (1.2 Äquiv. Et₃NH⁺, 16 mg, 23 µmol), gelöst in 1.5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde 0.1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer zugegeben, die Lösung gefriergetrocknet und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.

Summenformel: C₃₅H₅₂N₆O₂₀P₂

Molare Masse: 938.7705 g/mol



178

Darstellung von 1''-O-β-(1-(5-Methoxy-2-nitro-4-oxy-(4-oxybutyl(heptanoyl))-phenyl)ethyl)-adenosindiphosphat-ribose 181

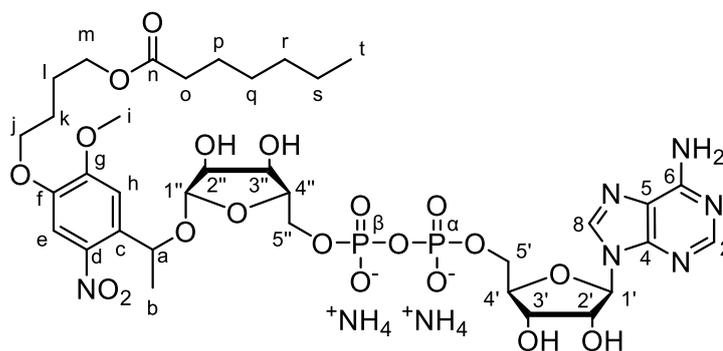
Es wurden 2.2 Äquiv. Natriumadenosinmonophosphat (82 mg, 0.22 mmol) vorgelegt, in 2 mL abs. Acetonitril suspendiert, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 30.2 Äquiv. Triethylamin (0.42 mL, 3.0 mmol) und 30.2 Äquiv. Trifluoressigsäureanhydrid (0.42 mL, 3.0 mmol) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand erneut in 2 mL abs. Acetonitril gelöst. Der Ansatz wurde erneut auf 0 °C gekühlt, 32.3 Äquiv. Triethylamin (0.45 mL, 3.2 mmol) und 12.6 Äquiv. Methylimidazol (0.10 mL, 1.3 mmol) hinzugegeben, die Kühlung entfernt und der Ansatz weitere zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.0 Äquiv. 4-(4-(1-(5-Phosphoryl-β-D-ribofuranyl)ethyl)-2-methoxy-5-nitrophenoxy)butylheptanoat **177** (1.1 Äquiv. Et₃NH⁺, 72 mg, 0.10 mmol), gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, zugetropft und die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% 0.1 M TEAB → 100% CH₃CN) gereinigt. Der erhaltene Rückstand wurde mittels Ionenaustauschchromatographie in das entsprechende Ammonium-Salz überführt, erneut lyophilisiert und der erhaltene Rückstand zur abschließenden Reinigung via automatisierter RP-Säulenchromatographie (100% H₂O → 100% CH₃CN) gereinigt und die entsprechenden Fraktionen lyophilisiert.

Es wird zur vereinfachten Berechnung des Molekulargewichts und der Ausbeute ein vollständiger Austausch der Kationen zu Ammonium-Ionen angenommen.

Ausbeute: 31% (30 mg, 31 μmol) eines leicht gelblichen, amorphen Feststoffes als Gemisch von zwei Diastereomeren.

Summenformel: C₃₅H₅₂N₆O₂₀P₂

Molare Masse: 938.7705 g/mol



181

Da es sich bei dem Produkt um ein Diastereomeregemisch aus zwei Isomeren handelt, konnten die NMR-Spektren aufgrund der Komplexität durch überlagernde Signale und dadurch erschwerte Integration nur eingeschränkt ausgewertet werden. Es wird aus diesem Grund auf eine Angabe der Integrale verzichtet. Aufgrund der geringen Signalintensität, bedingt durch die geringe Substanzmenge, wurden die ^{13}C -Signale mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren zugeordnet.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (600 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 8.41 (s, H-8, 1 ds), 8.40 (s, H-8, 1 ds), 8.15 (s, H-2, 1 ds), 8.15 (s, H-2, 1 ds), 7.56 (s, H-e, 1 ds), 7.54 (s, H-e, 1 ds), 7.27 (brs, $^+\text{NH}_4$), 7.26 (s, H-h, 1 ds), 7.16 (s, H-h, 1 ds), 5.92 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, H-1', 1 ds), 5.91 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, H-1', 1 ds), 5.27 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, H-a, 1 ds), 5.26 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-a, 1 ds), 4.80 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.2$ Hz, H-1'', 1 ds), 4.51 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 5.3$ Hz, H-2', 2 ds), 4.42 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.2$ Hz, H-1'', 1 ds), 4.29 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 4.3$ Hz, H-3', 1 ds), 4.25 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 4.4$ Hz, H-3', 1 ds), 4.11 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 5.4$ Hz, H-3'', 1 ds), 4.09 – 3.98 (m, H-5'/H-5'', 1 ds, H-j, 2 ds, H-m, 2 ds, H-3'', 1 ds, H-4', 2 ds), 3.94 – 3.88 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 3.91 (s, H-i, 1 ds), 3.89 (s, H-i, 1 ds), 3.88 – 3.85 (m, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds), 3.84 – 3.81 (m, H-2'', 1 ds, H-4'', 1 ds), 3.80 – 3.73 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 3.68 – 3.62 (m, H-5'/H-5'', 1 ds), 2.28 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-o, 2 ds), 1.82 – 1.75 (m, H-k/H-l, 2 ds), 1.75 – 1.68 (m, H-k/H-l, 2 ds), 1.53 – 1.47 (m, H-p, 2 ds), 1.42 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, H-b, 1 ds), 1.39 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-b, 1 ds), 1.28 – 1.19 (m, H-q, H-r, H-s, 2 ds), 0.86 – 0.81 (m, H-t, 2 ds).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (151 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): 172.9 (C-2), 155.9 (C-6), 153.5, 153.3 (C-g), 152.9 (C-2), 149.5 (C-4), 146.8, 146.5 (C-f), 140.1, 138.9 (C-d), 138.9 (C-8), 134.7, 133.7 (C-c), 118.8 (C-5), 110.1, 109.3 (C-h), 108.6 (C-e), 106.8, 104.9 (C-1''), 87.0 (C-1'), 83.2 (C-4'), 81.6, 81.3 (C-4''), 75.4, 74.7 (C-2''), 74.9 (C-2'), 71.3, 69.1 (C-a), 71.0, 70.6 (C-3''), 70.1 (C-3'), 68.3 (C-j/C-m), 66.2 (C-5'/C-5''), 64.9 (C-5'/C-5''), 63.4 (C-j/C-m), 56.2, 56.1 (C-i), 33.5 (C-o), 30.8, 28.1, 21.9 (C-q, C-r, C-s), 25.1 (C-k/C-l), 24.8 (C-k/C-l), 24.4 (C-p), 23.4, 22.8 (C-b), 13.8 (C-t).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (243 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): -11.3 – -12.0 (m, 2P, 2 ds).

HRMS: (ESI $^+$, m/z): ber.: 939.2784 [M+H] $^+$, gef.: 939.2845 [M+H] $^+$.

8 Gefahrstoffverzeichnis

8.1 Verwendete Gefahrstoffe

In **Tab. 1** sind die verwendeten Chemikalien und deren Gefahrenstoffpiktogramme sowie H- und P-Sätze aufgelistet.

Tab. 1: Gefahrstoffverzeichnis der verwendeten Chemikalien.

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Acetonitril	 Gefahr	225, 302+312+332, 319	210, 280, 303+361+353 304+340+312 305+351+338
Ammoniumacetat	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Acetonitril- <i>d</i> ₃	 Gefahr	225, 302+312, 319, 331	210, 280 301+312 303+361+353 304+340+311 305+351+338
1- <i>O</i> -Acetyl-2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-β-D-ribofuranosid	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Ammoniak (7 N in Methanol)	 Gefahr	225, 301+311+331, 314, 370, 412	210, 273, 280 301+310+330 303+361+353 305+351+338 +310
Ammoniumchlorid	 Achtung	302, 319	264, 270, 280 301+312 305+351+338 337+313

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Adenosinmonophosphat	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
2-Desoxyadenosinmonophosphat	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Bis(diisopropylamin)-chlorphosphin	 Gefahr	314	260, 280 301+330+331 303+361+353 304+340+310 305+351+338
tert-Butyldimethylsilylchlorid	 Gefahr	228, 314, 411	210, 260, 273 280 303+361+353 305+351+338 +310
tert-Butylhydroperoxid (5.5 M in n-Decan)	 Gefahr	226, 242, 302, 304, 311, 314, 317, 330, 335, 341, 411	210, 280 301+330+331 303+361+353 304+340+310 305+351+338 370+378
Benzylalkohol	 Achtung	302+332, 319	261, 264, 270 301+312 304+340+312 305+351+338
Chloroform-d	 Gefahr	302, 315, 319, 331, 336, 351, 361d, 372	202, 301+312 302+352 304+340+311 305+351+338 308+313

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
2-Cyanoethyl- <i>N,N</i> -diisopropyl-chlorphosphoramidit	 Gefahr	250, 314	210, 222 231+232, 280 303+361+353 305+351+338
Celite® 545	 Gefahr	372	260, 264, 280 314, 501
Citronensäure	 Achtung	319, 335	261, 264, 271 280 304+340+312 305+351+338
4-Dimethylaminopyridin	 Gefahr	301+331, 310, 315, 318, 370, 411	262, 273, 280 301+310 302+352+310 305+351+338
Dimethylsulfoxid- <i>d</i> ₆	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Deuteriumoxid	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Dimethylsulfoxid	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Dichlormethan	 Gefahr	315, 319, 336, 351	202, 261, 264 302+352 305+351+338 308+313
3,4-Dimethoxyacetophenon	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzaldehyd	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Dowex® 50WX8	 Achtung	319	305+351+338
N,N-Dimethylformamid	 Gefahr	226, 312+332, 319, 360D	210, 280 303+361+353 304+340+312 305+351+338 308+313
Dibenzyl-N,N-diisopropylaminophosphoramidit	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Diethylether	 Gefahr	224, 302, 336	210, 233, 240 241, 301+312 403+233
Essigsäure (konz.)	 Gefahr	226, 314	210, 280 303+361+353 305+351+338 +310
Essigsäureanhydrid	 Gefahr	226, 302, 314, 330	210, 280 301+312 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Ethanol	 Gefahr	225, 319	210, 233, 240 241, 242 305+351+338

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Ethylacetat	 Gefahr	225, 319, 336	210, 233, 240 241, 242 305+351+338
9-Fluorenmethanol	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
4-Hydroxybenzylalkohol	 Achtung	319, 412	264, 273, 280 305+351+338 337+313, 501
<i>n</i> -Heptylchlorformiat	 Gefahr	226, 331, 314	301+330+331 210, 280 305+351+338 310, 304+340
3-Hydroxy-4-methoxyacetophenon	 Achtung	302	-
4-Hydroxy-3-methoxyacetophenon	 Achtung	315, 319, 335	261, 264, 271 280, 302+352 305+351+338
Heptanol	 Achtung	319	305+351+338
Heptanoylchlorid	 Gefahr	314, 330	260, 271, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Imidazol	 Gefahr	302, 314, 360D	260, 280 301+312 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Kieselgel	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Kaliumcarbonat	 Achtung	315, 319, 335	261, 264, 271 280, 302+352 305+351+338
Kaliumnitrat	 Achtung	272	210
Lithiumaluminiumhydrid	 Gefahr	260, 314	223, 231+232 260, 280 303+361+353 305+351+338
Methanol-d ₄	 Gefahr	225, 301+311+331, 370	210, 233, 280 301+310 303+361+353 304+340+311
Methanol	 Gefahr	225, 301+311+331, 370	210, 233, 280 301+310 303+361+353 304+340+311
1-Methylimidazol	 Gefahr	302, 311, 314	270, 280 301+312 301+330+331 303+361+353 305+351+338

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Methylbromacetat	 Gefahr	301, 314, 317, 335	261, 270, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Methyl-4-brombutyrat	 Achtung	319, 315	302+352 305+351+338 312, 280
Natriumhydrogen- carbonat	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Natriumsulfat	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Natriumborhydrid	  Gefahr	260, 301, 314, 360FD	231+232, 260 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Natriumchlorid	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäss der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Natriummethanolat	 Gefahr	228, 251, 290, 302, 314	210, 235, 260 280 303+361+353 305+351+338
2-Nitroacetophenon	 Achtung	302	301+312+330

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Natronlauge (1 M)	 Gefahr	290, 314	264, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Octanoylchlorid	  Gefahr	290, 315, 317, 318, 330	280, 302+352 304+340+310 305+351+338 +310
Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Petrolether	   Gefahr	224, 304, 315, 336, 340, 350	210, 233 301+310 303+361+353 331, 403+233
Pyridin	  Gefahr	225, 302+312+332, 315, 319	210, 280 301+312 303+361+353 304+340+312 305+351+338
Pyridiniumtrifluoracetat	 Achtung	315, 319, 335	261, 264, 271 280, 302+352 305+351+338
Palladium auf Aktivkohle (10%)	 Achtung	315, 319	305+351+338
D-Ribose	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Salpetersäure (65%)	 Gefahr	272, 290, 314, 331	210, 220, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Salzsäure (konz.)	 Gefahr	290, 314, 335	234, 261, 271 280 303+361+353 305+351+338
Tetrabutylammonium- hydroxid (40% in Wasser)	 Gefahr	314, 317	261, 272, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338
Tetrahydrofuran	 Gefahr	225, 302, 319, 335, 336, 351	201, 202, 210 301+312 305+351+338 308+313
Triethylamin	 Gefahr	225, 302, 311+331, 314, 335	210, 280 301+330+331 303+361+353 304+340+311 305+351+338 +310
Toluol	 Gefahr	225, 304, 315, 336, 361d, 373, 412	202, 210, 273 301+310 303+361+353 331
Triethylamin- Trihydrofluorid	 Gefahr	300+310+330, 314	260, 270, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Tritylchlorid	 Gefahr	314	260, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338 363
Trifluoressigsäure-anhydrid	 Gefahr	314, 332, 412	273, 280 301+330+331 303+361+353 304+340+312 305+351+338 +310
Trifluoressigsäure	 Gefahr	314, 332, 412	261, 273, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338
<i>p</i> -Toluolsulfonylchlorid	 Gefahr	290, 315, 317, 318	280, 302+352 305+351+338 +310
2,4,6-Trimethylpyridin	 Gefahr	226, 302+332, 311, 315, 319, 335	210, 280 301+312 303+361+353 304+340+312 305+351+338
Triethylammonium-bicarbonat-Puffer (1 M in Wasser)	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		

Substanz	Gefahrstoffpiktogramm und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Tetrabutylammoniumfluorid (1 M in Tetrahydrofuran)	 Gefahr	225, 302, 315, 319, 335, 336, 351, 411	210, 273 301+312 303+361+353 305+351+338 308+313
Triethylammoniumacetat (2 M in Wasser)	 Achtung	315, 319, 335	261, 264, 271 280, 302+352 305+351+338
Triethylsilan	 Gefahr	225, 315, 319, 335	210, 233, 240 241 303+361+353 305+351+338
2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid	 Gefahr	314	280 301+330+331 303+361+353 305+351+338 +310
Wasserstoff	 Gefahr	220, 280	210, 377, 381 410+403
Zinn(IV)chlorid (1 M in Dichlormethan)	 Gefahr	314, 335, 336, 351, 412	202, 273, 280 303+361+353 304+340+310 305+351+338

8.2 Verwendete KMR-Substanzen

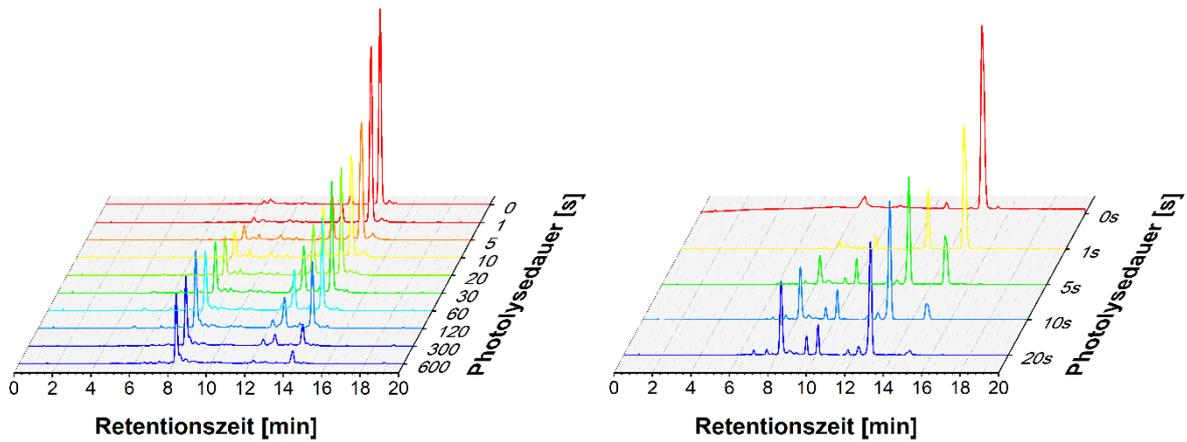
In **Tab. 2** sind die verwendeten KMR-Stoffe dargestellt.

Tab. 2: Liste der verwendeten KMR-Stoffe der Kategorien 1A und 1B.

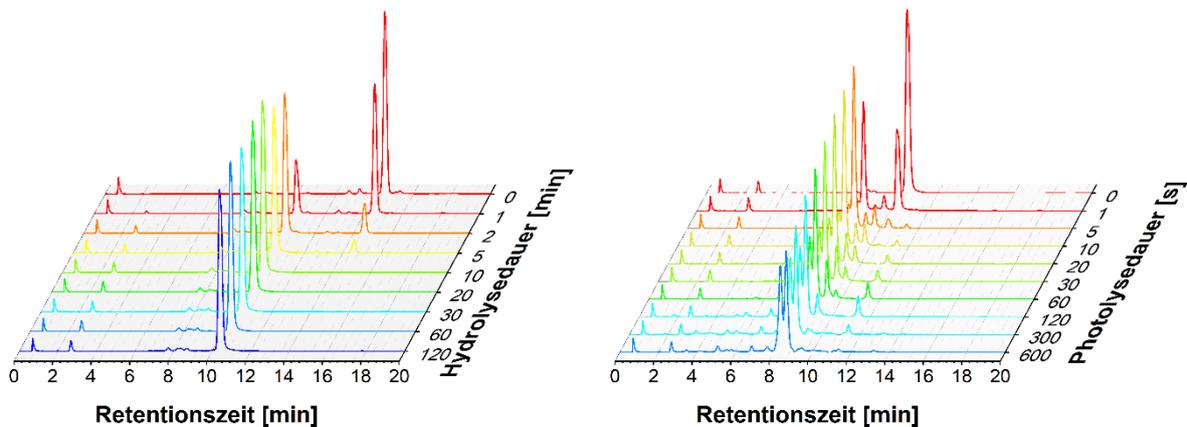
CAS-Nummer	Stoffname	Verfahren und eingesetzte Menge	Kategorie
288-32-4	Imidazol	Silylierungsreaktion, 50 g	1B
68-12-2	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	Lösungsmittel, 3 L	1B
865-49-6	Deuteriochloroform	NMR-Lösungsmittel, 0.5 L	1B

9 Anhang

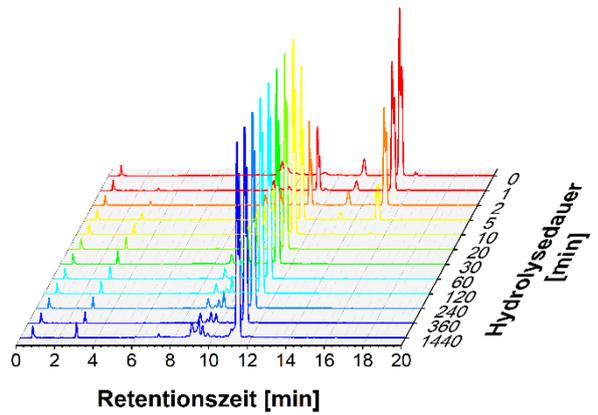
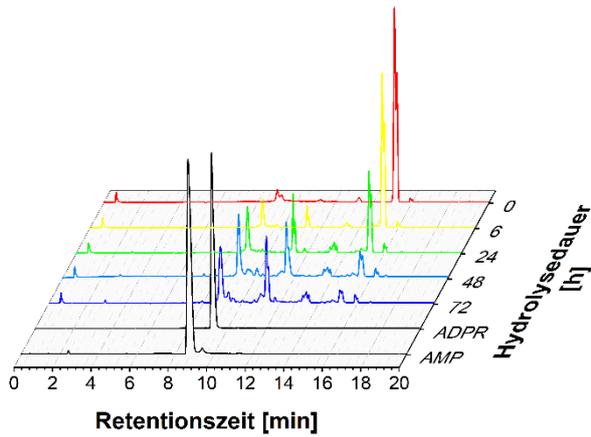
9.1 Photolyse- und Hydrolyseexperimente an Molekülen erster Generation



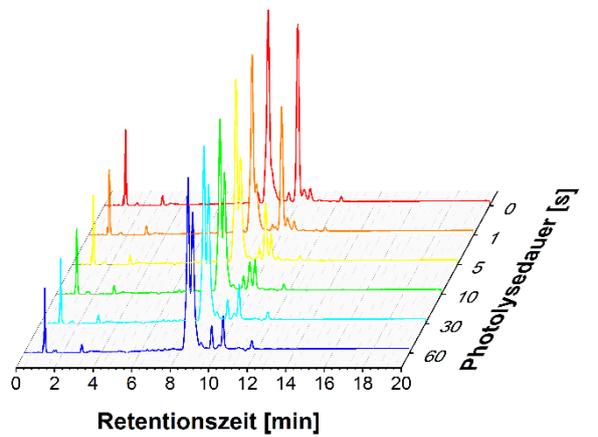
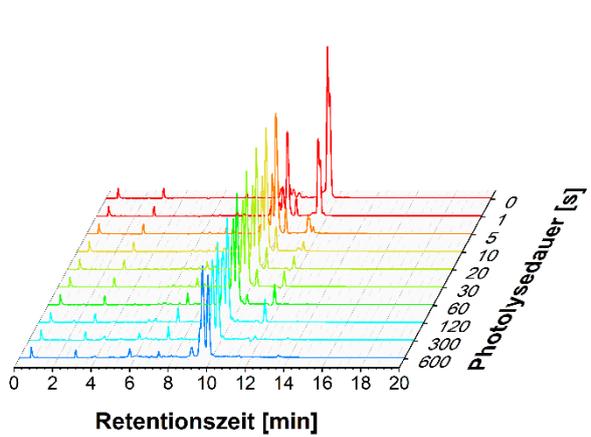
Anhang 1: Links: Wasserfalldiagramm der Chromatogramme der Photolysereaktion bei 365 nm von acetyliertem OB-NV-ADPR **36** zu Verbindung **74**. Rechts: Wasserfalldiagramm der Chromatogramme der Photolysereaktion bei 365 nm von acetyliertem OB-MeNV-ADPR **37** zu Verbindung **74**.



Anhang 2: Enzymatische Hydrolysereaktion von OB-MeNV-Derivat **37** mit PLE und anschließender Photolysereaktion (365 nm) des gebildeten Hydrolyseprodukts. Links: Wasserfalldiagramm der Chromatogramme der Hydrolysereaktion von MeNV-ADPR **37** mit PLE zu den möglichen Hydrolyseprodukten **65** bzw. **69**. Rechts: Wasserfalldiagramm der Chromatogramme der Photolysereaktion der Hydrolyseprodukte **65** bzw. **69**.

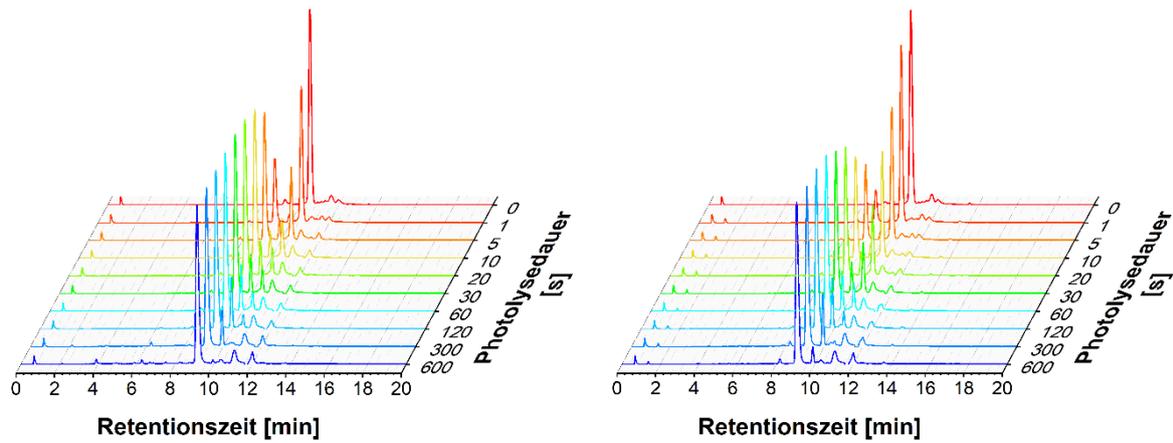


Anhang 3: Links: Wasserfalldiagramm der HPLC-Analyse der chemischen Hydrolyse von ADPR-Derivat **37** in PBS-Puffer bei 37 °C. Rechts: Wasserfalldiagramm der HPLC-Analyse der enzymatischen Hydrolyse des OB-MeNV-Derivats **37**.

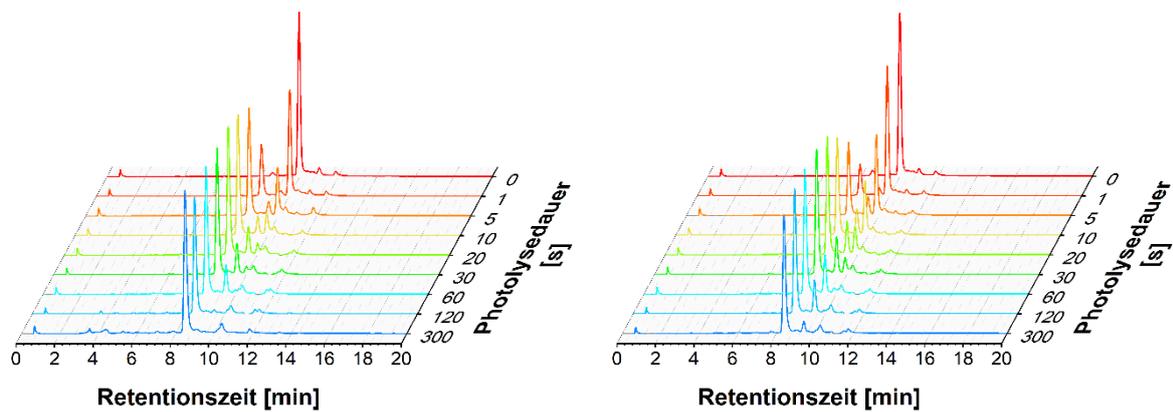


Anhang 4: Links: Wasserfalldiagramm der HPLC-Analyse der Photolyse von ADPR-Derivat **37** nach enzymatischer Hydrolyse mit PLE. Rechts: Wasserfalldiagramm der HPLC-Analyse der Photolyse (365 nm) nach CEM/0-Zellextrakthydrolyse der Verbindung **37**.

9.2 Photolyseexperimente an *caged* ADPR und *caged* dADPR

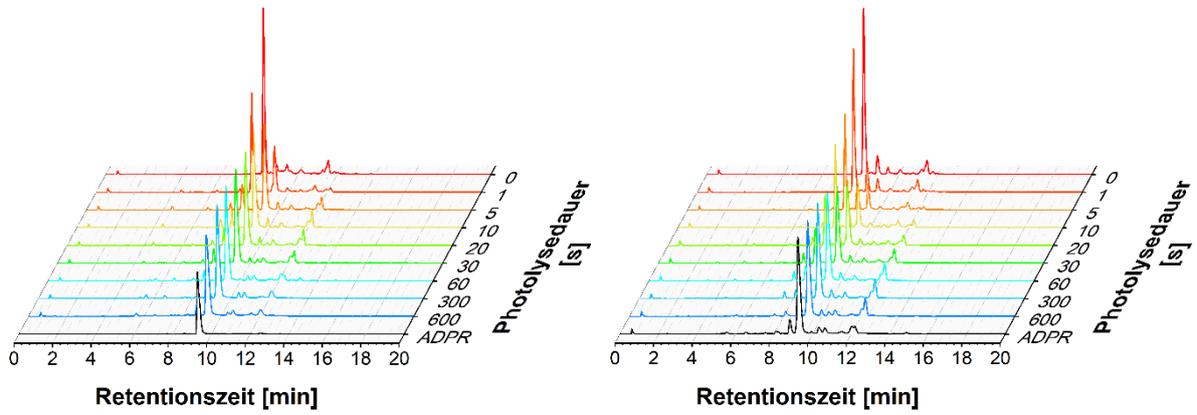


Anhang 5: Links: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-ADPRs **69** bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-ADPRs **69** bei 405 nm.

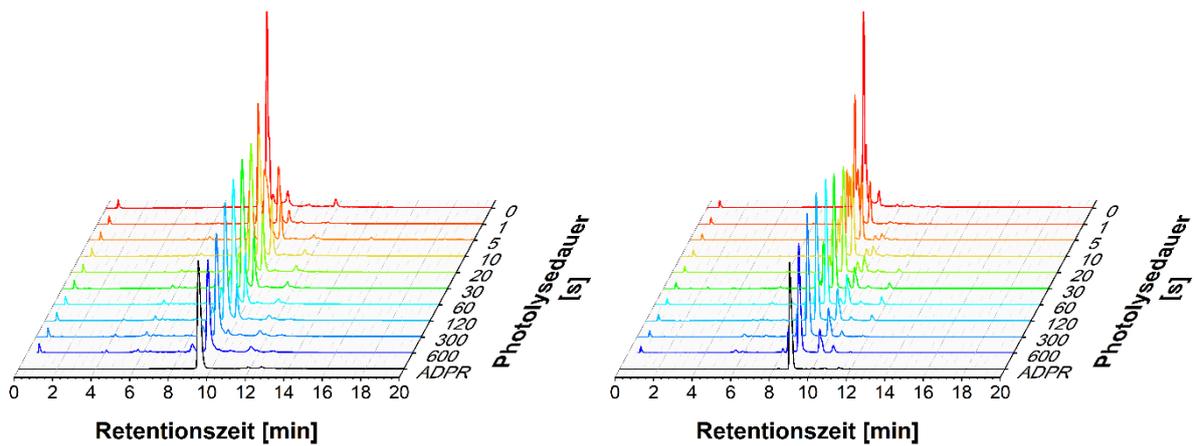


Anhang 6: Links: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-ADPRs **71** bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolyse des MeNV-ADPRs **71** bei 405 nm.

9.3 Photolyseexperimente an P_{β} -caged ADPR-Derivaten

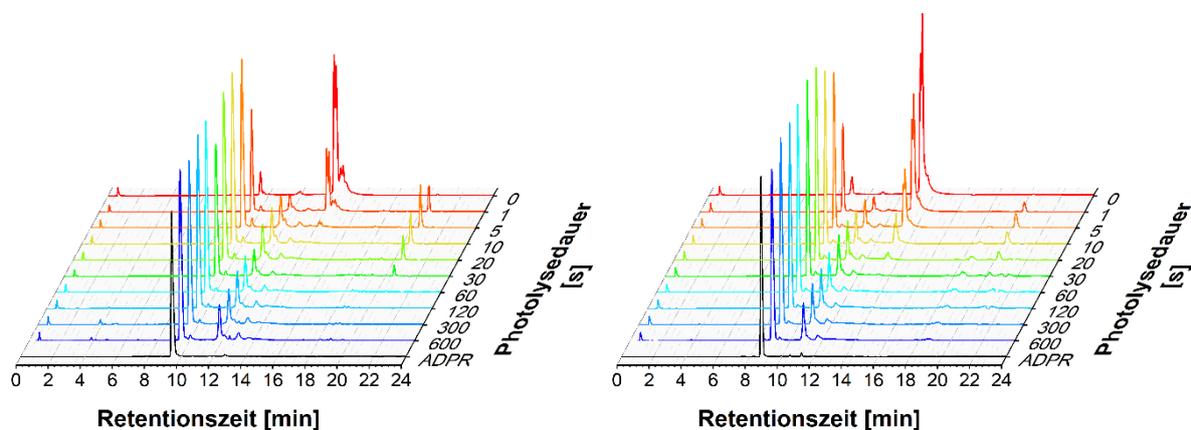


Anhang 7: Links: Ergebnisse der Photolysen von P_{β} -NPE-ADPR 122 bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolysen von P_{β} -NPE-ADPR 122 bei 405 nm.

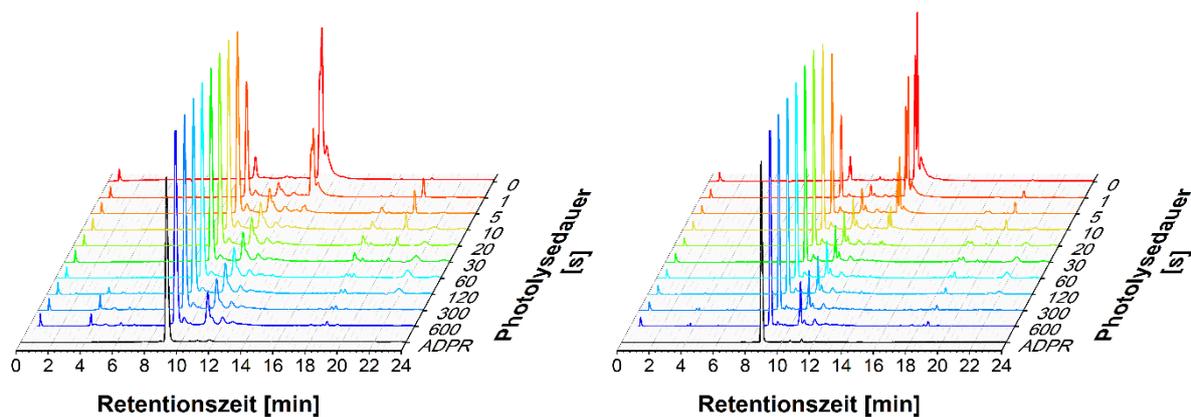


Anhang 8: Links: Ergebnisse der Photolysen von P_{β} -MeNV-ADPR 123 bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolysen von P_{β} -MeNV-ADPR 123 bei 405 nm.

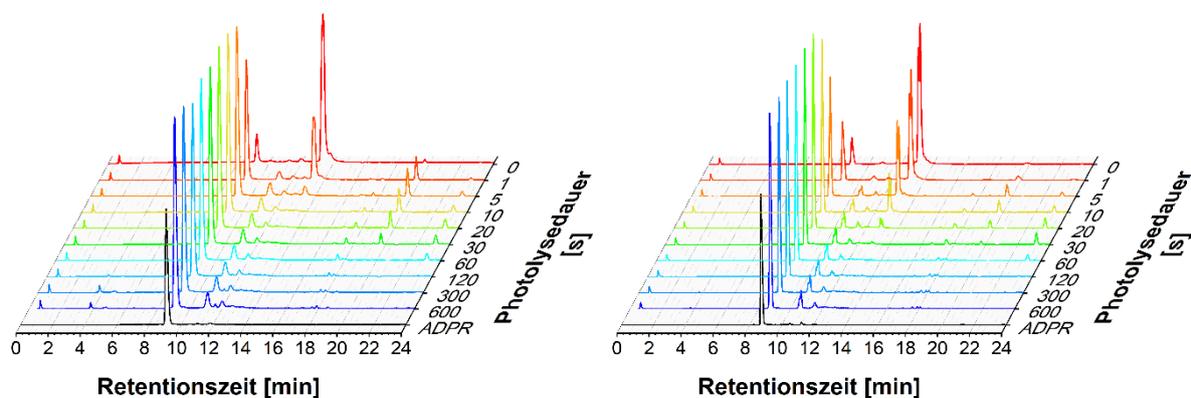
9.4 Photolyseexperimente an *caged* ADPR-Derivaten



Anhang 9: Links: Ergebnisse der Photolysen des 5-Methoxy-Heptylesters **179** bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolysen des 5-Methoxy-Heptylesters **179** bei 405 nm.



Anhang 10: Links: Ergebnisse der Photolysen des 4-Methoxy-Heptylesters **180** bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolysen des 4-Methoxy-Heptylesters **180** bei 405 nm.



Anhang 11: Links: Ergebnisse der Photolysen des 5-Methoxy-Heptanylesters **181** bei 365 nm. Rechts: Ergebnisse der Photolysen des 5-Methoxy-Heptanylesters **181** bei 405 nm.

10 Literaturverzeichnis

- [1] C. Nathan, A. Ding, Nonresolving Inflammation. *Cell* **2010**, *140*, 871–882.
- [2] L. Chen, H. Deng, H. Cui, J. Fang, Z. Zuo, J. Deng, Y. Li, X. Wang, L. Zhao, Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* **2018**, *9*, 7204–7218.
- [3] E. Y. Gusev, Y. A. Zhuravleva, N. V. Zotova, Correlation of the Evolution of Immunity and Inflammation in Vertebrates. *Biol. Bull. Rev.* **2019**, *9*, 358–372.
- [4] J. Parkin, B. Cohen, An overview of the immune system. *Lancet* **2001**, *357*, 1777–1789.
- [5] A. U. Ahmed, An overview of inflammation: Mechanism and consequences. *Front. Biol* **2011**, *6*, 274–281.
- [6] R. Medzhitov, Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell* **2010**, *140*, 771–776.
- [7] T. Pederson, A Talisman of Pathology. *FASEB J.* **2016**, *30*, 1011.
- [8] L. Ferrero-Miliani, O. H. Nielsen, P. S. Andersen, S. E. Girardin, Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clin. Exp. Immunol.* **2007**, *147*, 227–235.
- [9] E. Mortaz, S. D. Alipoor, I. M. Adcock, S. Mumby, L. Koenderman, Update on neutrophil function in severe inflammation. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 1–14.
- [10] S. Werner, R. Grose, Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines. *Physiol. Rev* **2003**, *83*, 835–870.
- [11] M. A. Chelombitko, Role of Reactive Oxygen Species in Inflammation: A Minireview. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* **2018**, *73*, 199–202.
- [12] P. Niethammer, C. Grabher, A. T. Look, T. J. Mitchison, A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish. *Nature* **2009**, *459*, 996–999.
- [13] M. Mittal, M. R. Siddiqui, K. Tran, S. P. Reddy, A. B. Malik, Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants Redox Signal.* **2014**, *20*, 1126–1167.
- [14] H. Sies, C. Berndt, D. P. Jones, Oxidative stress. *Annu. Rev. Biochem.* **2017**, *86*, 715–748.
- [15] J.-M. Pawlotsky, Pathophysiology of hepatitis C virus infection and related liver disease. *Trends Microbiol.* **2004**, *12*, 96–102.
- [16] S. I. Grivennikov, F. R. Greten, M. Karin, Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell* **2010**, *140*, 883–899.
- [17] P. Holzer, A. A. Izzo, The pharmacology of TRP channels. *Br. J. Pharmacol.* **2014**, *171*, 2469–2473.
- [18] H. A. Silverman, A. Chen, N. L. Kravatz, S. S. Chavan, E. H. Chang, Involvement of Neural Transient Receptor Potential Channels in Peripheral Inflammation. *Front. Immunol.* **2020**, *11*.
- [19] S. F. Pedersen, G. Owsianik, B. Nilius, TRP channels: An overview. *Cell Calcium* **2005**, *38*, 233–252.
- [20] I. S. Ramsey, M. Dellin, D. E. Clapham, An Introduction to TRP Channels. *Annu. Rev. Physiol.* **2006**, *68*, 619–647.

- [21] G. Thiel, T. M. Backes, O. G. Rössler, Chili und der Capsaicinrezeptor TRPV1. *Biol. unserer Zeit* **2020**, *50*, 246–252.
- [22] J. Keeble, F. Russell, B. Curtis, A. Starr, E. Pinter, S. D. Brain, Involvement of transient receptor potential vanilloid 1 in the vascular and hyperalgesic components of joint inflammation. *Arthritis Rheum.* **2005**, *52*, 3248–3256.
- [23] L. Vyklický, K. Novakova-Tousova, J. Benedikt, A. Samad, F. Touska, V. Vlachová, Calcium-dependent desensitization of vanilloid receptor TRPV1: a mechanism possibly involved in analgesia induced by topical application of capsaicin. *Physiol Res* **2008**, *57*, S59-68.
- [24] R. González-Muñiz, M. A. Bonache, C. Martín-Escura, I. Gómez-Monterrey, Recent Progress in TRPM8 Modulation: An Update. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 2618, DOI: 10.3390/ijms20112618.
- [25] R. Ramachandran, E. Hyun, L. Zhao, T. K. Lapointe, K. Chapman, C. L. Hirota, S. Ghosh, D. D. McKemy, N. Vergnolle, P. L. Beck, *et al.*, TRPM8 activation attenuates inflammatory responses in mouse models of colitis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2013**, *110*, 7476–7481.
- [26] J. Meng, S. V Ovsepian, J. Wang, M. Pickering, A. Sasse, K. R. Aoki, G. W. Lawrence, J. O. Dolly, Activation of TRPV1 Mediates Calcitonin Gene-Related Peptide Release, Which Excites Trigeminal Sensory Neurons and Is Attenuated by a Retargeted Botulinum Toxin with Anti-Nociceptive Potential. *J. Neurosci.* **2009**, *29*, 4981–4992.
- [27] J.-H. Kim, Y.-S. Jang, H. Il Kim, J.-Y. Park, S. Park, Y. Il Hwang, S. H. Jang, K.-S. Jung, H.-S. Park, C.-S. Park, Activation of Transient Receptor Potential Melastatin Family Member 8 (TRPM8) Receptors Induces Proinflammatory Cytokine Expressions in Bronchial Epithelial Cells. *Allergy Asthma Immunol Res* **2020**, *12*, 684–700.
- [28] A. Sumoza-Toledo, R. Penner, TRPM2: a multifunctional ion channel for calcium signalling. *J. Physiol.* **2011**, *589*, 1515–1525.
- [29] J. C. Belrose, M. F. Jackson, TRPM2: a candidate therapeutic target for treating neurological diseases. *Acta Pharmacol. Sin.* **2018**, *39*, 722–732.
- [30] K. Song, H. Wang, G. B. Kamm, J. Pohle, F. de C. Reis, P. Heppenstall, H. Wende, J. Siemens, The TRPM2 channel is a hypothalamic heat sensor that limits fever and can drive hypothermia. *Science.* **2016**, *353*, 1393–1398.
- [31] K. Uchida, K. Dezaki, B. Damdindorj, H. Inada, T. Shiuchi, Y. Mori, T. Yada, Y. Minokoshi, M. Tominaga, Lack of TRPM2 Impaired Insulin Secretion and Glucose Metabolisms in Mice. *Diabetes* **2010**, *60*, 119–126.
- [32] L.-H. Jiang, W. Yang, J. Zou, D. J. Beech, TRPM2 channel properties, functions and therapeutic potentials. *Expert Opin. Ther. Targets* **2010**, *14*, 973–988.
- [33] B. A. Miller, N. E. Hoffman, S. Merali, X. Q. Zhang, J. F. Wang, S. Rajan, S. Shanmughapriya, E. Gao, C. A. Barrero, K. Mallilankaraman, *et al.*, TRPM2 channels protect against cardiac ischemia-reperfusion injury: Role of mitochondria. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 7615–7629.
- [34] G. Wang, L. Cao, X. Liu, N. A. Sieracki, A. Di, X. Wen, Y. Chen, S. Taylor, X. Huang, C. Tirupathi, *et al.*, Oxidant Sensing by TRPM2 Inhibits Neutrophil Migration and Mitigates Inflammation. *Dev. Cell* **2016**, *38*, 453–462.
- [35] A. Di, X.-P. Gao, F. Qian, T. Kawamura, J. Han, C. Hecquet, R. D. Ye, S. M. Vogel, A. B. Malik, The redox-sensitive cation channel TRPM2 modulates phagocyte ROS production and inflammation. *Nat. Immunol.* **2012**, *13*, 29–34.

- [36] M. Faouzi, R. Penner, TRPM2 BT - Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels: Volume I (Eds.: B. Nilius, V. Flockerzi), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2014**, 403–426.
- [37] Q. Wang, N. Liu, Y.-S. Ni, J.-M. Yang, L. Ma, X.-B. Lan, J. Wu, J.-G. Niu, J.-Q. Yu, TRPM2 in ischemic stroke: Structure, molecular mechanisms, and drug intervention. *Channels* **2021**, *15*, 136–154.
- [38] J.-Z. Bai, J. Lipski, Differential expression of TRPM2 and TRPV4 channels and their potential role in oxidative stress-induced cell death in organotypic hippocampal culture. *Neurotoxicology* **2010**, *31*, 204–214.
- [39] B. A. Miller, TRPM2 in Cancer. *Cell Calcium* **2019**, *80*, 8–17.
- [40] K. Nagamine, J. Kudoh, S. Minoshima, K. Kawasaki, S. Asakawa, F. Ito, N. Shimizu, Molecular Cloning of a Novel Putative Ca²⁺-Channel Protein (TRPC7) Highly Expressed in Brain. *Genomics* **1998**, *54*, 124–131.
- [41] C. Harteneck, T. D. Plant, G. Schultz, From worm to man: three subfamilies of TRP channels. *Trends Neurosci.* **2000**, *23*, 159–166.
- [42] C. Montell, L. Birnbaumer, V. Flockerzi, R. J. Bindels, E. A. Bruford, M. J. Caterina, D. E. Clapham, C. Harteneck, S. Heller, D. Julius, *et al.*, A Unified Nomenclature for the Superfamily of TRP Cation Channels. *Mol Cell* **2002**, *9*, 229–231.
- [43] J. Du, J. Xie, L. Yue, Intracellular calcium activates TRPM2 and its alternative spliced isoforms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, *106*, 7239–7244.
- [44] Y. Huang, P. A. Winkler, W. Sun, W. Lü, J. Du, Architecture of the TRPM2 channel and its activation mechanism by ADP-ribose and calcium. *Nature* **2018**, *562*, 145–149.
- [45] C. M. Hecquet, G. U. Ahmmed, S. M. Vogel, A. B. Malik, Role of TRPM2 Channel in Mediating H₂O₂-Induced Ca²⁺ Entry and Endothelial Hyperpermeability. *Circ. Res.* **2008**, *102*, 347–355.
- [46] R. Ding, Y.-L. Yin, L.-H. Jiang, Reactive Oxygen Species-Induced TRPM2-Mediated Ca²⁺ Signalling in Endothelial Cells. *Antioxidants* **2021**, *10*, 718.
- [47] E. Wehage, J. Eisfeld, I. Heiner, E. Jüngling, C. Zitt, A. Lückhoff, Activation of the Cation Channel Long Transient Receptor Potential Channel 2 (LTRPC2) by Hydrogen Peroxide: A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 23150–23156.
- [48] L. Wang, T.-M. Fu, Y. Zhou, S. Xia, A. Greka, H. Wu, Structures and gating mechanism of human TRPM2. *Science*. **2018**, *362*, eaav4809.
- [49] A.-L. Perraud, A. Fleig, C. A. Dunn, L. A. Bagley, P. Launay, C. Schmitz, A. J. Stokes, Q. Zhu, M. J. Bessman, R. Penner, *et al.*, ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology. *Nature* **2001**, *411*, 595–599.
- [50] B. Tóth, I. Iordanov, L. Csanády, Identification of Direct and Indirect Effectors of the Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) Cation Channel. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111*, 16949–16954.
- [51] I. Iordanov, C. Mihályi, B. Tóth, L. Csanády, The proposed channel-enzyme transient receptor potential melastatin 2 does not possess ADP ribose hydrolase activity. *Elife* **2016**, *5*, 1–20.
- [52] Y. Huang, B. Roth, W. Lü, J. Du, Ligand recognition and gating mechanism through three ligand-binding sites of human TRPM2 channel. *Elife* **2019**, *8*, e50175.

- [53] L. Csanády, B. Törőcsik, Four Ca²⁺ Ions Activate TRPM2 Channels by Binding in Deep Crevices near the Pore but Intracellularly of the Gate *J. Gen. Physiol.* **2009**, *133*, 189–203.
- [54] R. Fliegert, A. Bauche, A.-M. Wolf Pérez, J. M. Watt, M. D. Rozewitz, R. Winzer, M. Janus, F. Gu, A. Rosche, A. Harneit, *et al.*, 2'-Deoxyadenosine 5'-diphosphoribose is an endogenous TRPM2 superagonist. *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 1036–1044.
- [55] F. J. P. Kühn, J. M. Watt, B. V. L. Potter, A. Lückhoff, Different substrate specificities of the two ADPR binding sites in TRPM2 channels of *Nematostella vectensis* and the role of IDPR. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 4985.
- [56] O. Grubisha, L. A. Rafty, C. L. Takanishi, X. Xu, L. Tong, A.-L. Perraud, A. M. Scharenberg, J. M. Denu, Metabolite of SIR2 Reaction Modulates TRPM2 Ion Channel. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 14057–14065.
- [57] B. Tóth, L. Csanády, Identification of Direct and Indirect Effectors of the Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) Cation Channel. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 30091–30102.
- [58] R. Fliegert, W. M. Riekehr, A. H. Guse, Does Cyclic ADP-Ribose (cADPR) Activate the Non-selective Cation Channel TRPM2? *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 1–6.
- [59] K. Ayub, M. B. Hallett, The mitochondrial ADPR link between Ca²⁺ store release and Ca²⁺ influx channel opening in immune cells. *FASEB J.* **2004**, *18*, 1335–1338.
- [60] A.-L. Perraud, C. L. Takanishi, B. Shen, S. Kang, M. K. Smith, C. Schmitz, H. M. Knowles, D. Ferraris, W. Li, J. Zhang, *et al.*, Accumulation of Free ADP-ribose from Mitochondria Mediates Oxidative Stress-induced Gating of TRPM2 Cation Channels. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 6138–6148.
- [61] F. Di Lisa, R. Menabò, M. Canton, M. Barile, P. Bernardi, Opening of the Mitochondrial Permeability Transition Pore Causes Depletion of Mitochondrial and Cytosolic NAD⁺ and Is a Causative Event in the Death of Myocytes in Postischemic Reperfusion of the Heart. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 2571–2575.
- [62] D. d'Amours, S. Desnoyers, I. d'Silva, G. G. Poirier, Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. *Biochem. J.* **1999**, *342*, 249–268.
- [63] C. Blenn, P. Wyrsh, J. Bader, M. Bollhalder, F. R. Althaus, Poly(ADP-ribose)-glycohydrolase is an upstream regulator of Ca²⁺ fluxes in oxidative cell death *Cell. Mol. Life Sci.* **2011**, *68*, 1455–1466.
- [64] L. Tong, J. M. Denu, Function and metabolism of sirtuin metabolite O-acetyl-ADP-ribose. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2010**, *1804*, 1617–1625.
- [65] L. A. Rafty, M. T. Schmidt, A.-L. Perraud, A. M. Scharenberg, J. M. Denu, Analysis of O-Acetyl-ADP-ribose as a Target for Nudix ADP-ribose Hydrolases. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 47114–47122.
- [66] R. Fliegert, J. Heeren, F. Koch-Nolte, V. O. Nikolaev, C. Lohr, C. Meier, A. H. Guse, Adenine nucleotides as paracrine mediators and intracellular second messengers in immunity and inflammation. *Biochem. Soc. Trans.* **2019**, *47*, 329–337.
- [67] J. C. Weaver, Electroporation: A general phenomenon for manipulating cells and tissues. *J. Cell. Biochem.* **1993**, *51*, 426–435.
- [68] Y. Zhang, L.-C. Yu, Single-cell microinjection technology in cell biology. *BioEssays* **2008**, *30*, 606–610.
- [69] P. Ettmayer, G. L. Amidon, B. Clement, B. Testa, Lessons Learned from Marketed and Investigational Prodrugs. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2393–2404.

- [70] K. Beaumont, R. Webster, I. Gardner, K. Dack, Design of Ester Prodrugs to Enhance Oral Absorption of Poorly Permeable Compounds: Challenges to the Discovery Scientist. *Curr. Drug Metab.* **2003**, *4*, 461–485.
- [71] P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrug Clinical Candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10400–10410.
- [72] Y. Mehellou, J. Balzarini, C. McGuigan, Aryloxy Phosphoramidate Triesters: a Technology for Delivering Monophosphorylated Nucleosides and Sugars into Cells. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1779–1791.
- [73] Y. Mehellou, H. S. Rattan, J. Balzarini, The ProTide Prodrug Technology: From the Concept to the Clinic. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 2211–2226.
- [74] M. J. Sofia, D. Bao, W. Chang, J. Du, D. Nagarathnam, S. Rachakonda, P. G. Reddy, B. S. Ross, P. Wang, H.-R. Zhang, *et al.*, Discovery of a β -d-2'-Deoxy-2'- α -fluoro-2'- β -C-methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7202–7218.
- [75] Y. N. Lamb, Remdesivir: First Approval. *Drugs* **2020**, *80*, 1355–1363.
- [76] D. Rubin, K. Chan-Tack, J. Farley, A. Sherwat, FDA Approval of Remdesivir — A Step in the Right Direction. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 2598–2600.
- [77] A. Strom, C. L. Tong, C. R. Wagner, Histidine triad nucleotide-binding proteins HINT1 and HINT2 share similar substrate specificities and little affinity for the signaling dinucleotide Ap4A, *FEBS Lett.* **2020**, *594*, 1497–1505.
- [78] C. Meier, *cycloSal* phosphates as chemical trojan horses for intracellular nucleotide and glycosylmonophosphate delivery - Chemistry meets biology. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1081–1102.
- [79] D. Vukadinović, N. P. H. Böge, J. Balzarini, C. Meier, "Lock-in" modified cyclosal nucleotides--the second generation of cyclosal prodrugs. *Nucl. Nucl. Nucl. Acids* **2005**, *24*, 939–942.
- [80] C. R. Wagner, V. V Iyer, E. J. McIntee, Pronucleotides: Toward the in vivo delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417–451.
- [81] U. Pradere, E. C. Garnier-Amblard, S. J. Coats, F. Amblard, R. F. Schinazi, Synthesis of Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrugs. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 9154–9218.
- [82] W. Thomson, D. Nicholls, W. J. Irwin, J. S. Al-Mushadani, S. Freeman, A. Karpas, J. Petrik, N. Mahmood, A. J. Hay, Synthesis, bioactivation and anti-HIV activity of the bis(4-acyloxybenzyl) and mono(4-acyloxybenzyl) esters of the 5'-monophosphate of AZT. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 1239–1245.
- [83] S. Freeman, W. J. Irwin, A. G. Mitchell, D. Nicholls, W. Thomson, Bioreversible protection for the phospho group: chemical stability and bioactivation of di(4-acetoxybenzyl) methylphosphonate with carboxyesterase. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 875–877.
- [84] H. J. Jessen, Untersuchungen zur intrazellulären Freisetzung von Nucleosidphosphaten, Dissertation, Universität Hamburg, **2008**.
- [85] C. Meier, H. J. Jessen, J. Balzarini, Nucleoside Diphosphate Prodrugs. *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, *52*, 83–84.
- [86] H. J. Jessen, T. Schulz, J. Balzarini, C. Meier, Bioreversible Maskierung von Nucleosid-diphosphaten. *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8847–8850.

- [87] H. J. Jessen, T. Schulz, J. Balzarini, C. Meier, Bioreversible Protection of Nucleoside Diphosphates. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 8719–8722.
- [88] L. Weinschenk, T. Gollnest, D. Schols, J. Balzarini, C. Meier, Bis(benzoyloxybenzyl)-DiPPro Nucleoside Diphosphates of Anti-HIV Active Nucleoside Analogues. *ChemMedChem* **2015**, *10*, 891–900.
- [89] C. Meier, Nucleoside diphosphate and triphosphate prodrugs – An unsolvable task? *Antivir. Chem. Chemother.* **2017**, *25*, 69–82.
- [90] C. Meier, J. H. Jessen, T. Schulz, L. Weinschenk, F. Pertenbreiter, J. Balzarini, Rational Development of Nucleoside Diphosphate Prodrugs: DiPPro-Compounds. *Curr. Med. Chem.* **2015**, *22*, 3933–3950.
- [91] C. Zhao, Non-Symmetrically-Masked TriPPro Prodrugs and γ -Modified Nucleoside Triphosphate Compounds as Potential Antivirals against HIV, Dissertation, Universität Hamburg, **2019**.
- [92] X. Jia, Membrane-Permeable Nucleoside Triphosphate Prodrugs of Anti-HIV Active Nucleoside Analogues: γ -(Phosphate or Phosphonate)-Modified Nucleotide Analogues, Dissertation, Universität Hamburg, **2020**.
- [93] I. S. Reimer, 3'-S-Phosphorthiolatverbrückte Oligonucleotide und Fluoreszierende Nucleotid-Prodrugs Für Zellaufnahmestudien, Dissertation, Universität Hamburg, **2017**.
- [94] J. Witt, Unveröffentlichte Studien, Universität Hamburg, **2022**.
- [95] M. Rossmeier, Unveröffentlichte Studien, Universität Hamburg, **2022**.
- [96] F. Pertenbreiter, Fluoreszenzmarkierte *cycloSal*- Und DiPPro-Nucleotide, Dissertation, Universität Hamburg, **2013**.
- [97] D. Rosen, D. Bloor-Young, J. Squires, R. Parkesh, G. Waters, S. R. Vasudevan, A. M. Lewis, G. C. Churchill, Synthesis and use of cell-permeant cyclic ADP-ribose. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2012**, *418*, 353–358.
- [98] R. Parkesh, A. M. Lewis, P. K. Aley, A. Arredouani, S. Rossi, R. Tavares, S. R. Vasudevan, D. Rosen, A. Galione, J. Dowden, *et al.*, Cell-permeant NAADP: A novel chemical tool enabling the study of Ca^{2+} signalling in intact cells. *Cell Calcium* **2008**, *43*, 531–538.
- [99] A. Ruthenbeck, Functionalized Prodrugs of a Bacterial RNAP-Inhibitor & Bio-Reversibly Masked Purinergic 2nd Messenger Derivatives Associated with Ca^{2+} Signaling, Dissertation, Universität Hamburg, **2018**.
- [100] P. Dekiert, Synthese von membranpermeablen, chemisch stabilisierten NAADP-Derivaten, Dissertation, Universität Hamburg, **2021**.
- [101] S. E. Post, Synthese eines lipophil maskierten Synthesebausteins zur Darstellung eines NAADP-Analogons, Masterarbeit, Universität Hamburg, **2020**.
- [102] O. Baszczyński, J. M. Watt, M. D. Rozewitz, R. Fliegert, A. H. Guse, B. V. L. Potter, Synthesis of phosphonoacetate analogues of the second messenger adenosine 5'-diphosphate ribose (ADPR). *RSC Adv.* **2020**, *10*, 1776–1785.
- [103] K. Pahnke, C. Meier, Synthesis of a Bioreversibly Masked Lipophilic Adenosine Diphosphate Ribose Derivative. *ChemBioChem* **2017**, *18*, 1616–1626.
- [104] P. Klán, T. Šolomek, C. G. Bochet, A. Blanc, R. Givens, M. Rubina, V. Popik, A. Kostikov, J. Wirz, Photoremovable protecting groups in chemistry and biology: Reaction mechanisms and efficacy. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 119–191.

- [105] J. A. McCray, D. R. Trentham, Properties and Uses of Photoreactive Caged Compounds. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1989**, *18*, 239–270.
- [106] R. H. Kramer, J. J. Chambers, D. Trauner, Photochemical tools for remote control of ion channels in excitable cells. *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, 360–365.
- [107] C. G. Bochet, Photolabile protecting groups and linkers. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2002**, 125–142.
- [108] N. Jeschik, Synthese und Untersuchung diverser photocaged Adenosinverbindungen, Dissertation, Universität Hamburg, **2020**.
- [109] Y. V Il'ichev, J. Wirz, Rearrangements of 2-Nitrobenzyl Compounds. 1. Potential Energy Surface of 2-Nitrotoluene and Its Isomers Explored with ab Initio and Density Functional Theory Methods. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 7856–7870.
- [110] M. Gaplovsky, Y. V Il'ichev, Y. Kamdzhilov, S. V Kombarova, M. Mac, M. A. Schwörer, J. Wirz, Photochemical reaction mechanisms of 2-nitrobenzyl compounds: 2-Nitrobenzyl alcohols form 2-nitroso hydrates by dual proton transfer. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, *4*, 33–42.
- [111] A. K. Singh, P. K. Khade, 7-Methoxy-3-nitro-2-naphthalenemethanol—a new phototrigger for caging applications. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4899–4902.
- [112] G. Mayer, A. Heckel, Biologically Active Molecules with a “Light Switch”. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2006**, *45*, 4900–4921.
- [113] G. Mayer, A. Heckel, Biologisch aktive Moleküle mit “Lichtschalter”. *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5020–5042.
- [114] B. Amit, U. Zehavi, A. Patchornik, Photosensitive Protecting Groups — A Review. *Isr. J. Chem.* **1974**, *12*, 103–113.
- [115] J. H. Kaplan, B. Forbush, J. F. Hoffman, Rapid photolytic release of adenosine 5'-triphosphate from a protected analog: utilization by the sodium: potassium pump of human red blood cell ghosts. *Biochemistry* **1978**, *17*, 1929–1935.
- [116] J. A. McCray, L. Herbet, T. Kihara, D. R. Trentham, A new approach to time-resolved studies of ATP-requiring biological systems; laser flash photolysis of caged ATP. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1980**, *77*, 7237–7241.
- [117] N. Jeschik, T. Schneider, C. Meier, Photocaged and Mixed Photocaged Bioreversible-Protected ATP Derivatives as Tools for the Controlled Release of ATP. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, *2020*, 6776–6789.
- [118] R. Aarhus, K. Gee, H. C. Lee, Caged Cyclic ADP-Ribose: Synthesis and Use. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 7745–7749.
- [119] H. C. Lee, R. Aarhus, K. R. Gee, T. Kestner, Caged Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate: Synthesis and Use. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 4172–4178.
- [120] P. Yu, Q. Wang, L.-H. Zhang, H.-C. Lee, L. Zhang, J. Yue, A Cell Permeable NPE Caged ADP-Ribose for Studying TRPM2. *PLoS One* **2012**, *7*, e51028.
- [121] T. Gollnest, Das TriPPPro-Konzept: Entwicklung und Charakterisierung von antiviralen Nucleosidtriphosphat-Prodrugs, Dissertation, Universität Hamburg, **2015**.
- [122] J. D. Trzuppek, T. L. Sheppard, Photochemical Generation of Ribose Abasic Sites in RNA Oligonucleotides. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1493–1496.
- [123] L. Bohé, D. Crich, A propos of glycosyl cations and the mechanism of chemical glycosylation. *Comptes Rendus Chim.* **2011**, *14*, 3–16.

- [124] C. Marino, A. Chiocconi, O. Varela, R. M. de Lederkremer, The glycosyl-aldonolactone approach for the synthesis of beta-D-Galf-(1-->3)-D-Manp and 3-deoxy-beta-D-xylohexofuranosyl-(1-->3)-D-Manp *Carbohydr. Res.* **1998**, *311*, 183–189.
- [125] K. Pahnke, Synthese funktionalisierter Zuckernucleotide und deren Anwendbarkeit als biologische Tools, Dissertation, Universität Hamburg, **2017**.
- [126] M. A. Russell, A. P. Laws, J. H. Atherton, M. I. Page, The mechanism of the phosphoramidite synthesis of polynucleotides. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3270–3275.
- [127] X. Luo, M. Li, K. Zhan, W. Yang, L. Zhang, K. Wang, P. Yu, L. Zhang, Selective inhibition of TRPM2 channel by two novel synthesized ADPR analogues. *Chem. Biol. Drug Des.* **2018**, *91*, 552–566.
- [128] B. S. Drown, T. Shirai, J. G. M. Rack, I. Ahel, P. J. Hergenrother, Monitoring Poly(ADP-ribose)glycohydrolase Activity with a Continuous Fluorescent Substrate. *Cell Chem. Biol.* **2018**, *25*, 1562-1570.e19.
- [129] M. Kock, Beiträge zur Synthese von lipophil-maskiertem MeNV-ADPR, Bachelorarbeit Universität Hamburg, **2021**.
- [130] V. J. Davisson, D. R. Davis, V. M. Dixit, C. D. Poulter, Synthesis of nucleotide 5'-diphosphates from 5'-O-tosyl nucleosides *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1794–1801.
- [131] K. Shah, H. Wu, T. M. Rana, Synthesis of Uridine Phosphoramidite Analogs: Reagents for Site-Specific Incorporation of Photoreactive Sites into RNA Sequences. *Bioconjug. Chem.* **1994**, *5*, 508–512.
- [132] Y. V. Sherstyuk, T. V. Abramova, How To Form a Phosphate Anhydride Linkage in Nucleotide Derivatives. *ChemBioChem* **2015**, *16*, 2562–2570.
- [133] S. Mohamady, S. D. Taylor, General Procedure for the Synthesis of Dinucleoside Polyphosphates. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6344–6349.
- [134] J. Witt, Synthesis of Fluorescence Labeled TriPPP-Compounds for Cellular Uptake Studies and Synthesis of Antitumoral TriPPP-Compounds, Masterarbeit, Universität Hamburg, **2019**.
- [135] O. P. Chevallier, M. E. Migaud, Investigation of acetyl migrations in furanosides. *Beilstein J. Org. Chem.* **2006**, *2*, 14.
- [136] M. Dvorakova, R. Nencka, M. Dejmek, E. Zbornikova, A. Brezinova, M. Pribylova, R. Pohl, M. E. Migaud, T. Vanek, Synthesis of alkylcarbonate analogs of O-acetyl-ADP-ribose. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 5702–5713.
- [137] R. I. Hogrefe, A. P. McCaffrey, L. U. Borozdina, E. S. McCampbell, M. M. Vaghefi, Effect of excess water on the desilylation of oligoribonucleotides using tetrabutylammonium fluoride. *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 4739–4741.
- [138] A. B. Smith, G. R. Ott, Total Synthesis of (–)-Macrolactin A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13095–13096.
- [139] F. Derosa, S. Karve, Y. Zhang, M. Heartlein, *Ribose Cationic Lipids*, **2019**, WO/2019/222424 A1.
- [140] K. M. Schelkle, C. Schmid, K. Yserentant, M. Bender, I. Wacker, M. Petzoldt, M. Hamburger, D.-P. Herten, R. Wombacher, R. R. Schröder, *et al.*, Cell Fixation by Light-Triggered Release of Glutaraldehyde. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2017**, *56*, 4724–4728.

- [141] M. S. Brown, H. Rapoport, The Reduction of Esters with Sodium Borohydride. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 3261–3263.
- [142] B. Rhoné, V. Semetey, Base-Catalyzed Transcarbamoylation. *Synlett* **2017**, *28*, 2004–2007.
- [143] R. Misawa, T. Minami, A. Okamoto, Y. Ikeuchi, A Light-Inducible Hedgehog Signaling Activator Modulates Proliferation and Differentiation of Neural Cells. *ACS Chem. Biol.* **2020**, *15*, 1595–1603.
- [144] J. Inanaga, K. Hirata, H. Saeki, T. Katsuki, M. Yamaguchi, A Rapid Esterification by Means of Mixed Anhydride and Its Application to Large-ring Lactonization. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 1989–1993.
- [145] S. Sander, J. Pick, E. Gattkowsky, R. Fliegert, H. Tidow, The crystal structure of TRPM2 MHR1/2 domain reveals a conserved Zn²⁺-binding domain essential for structural integrity and channel activity. *Protein Sci.* **2022**, *31*, e4320.
- [146] O. Baszczyński, J. M. Watt, M. D. Rozewitz, A. H. Guse, R. Fliegert, B. V. L. Potter, Synthesis of Terminal Ribose Analogues of Adenosine 5'-Diphosphate Ribose as Probes for the Transient Receptor Potential Cation Channel TRPM2. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 6143–6157.
- [147] R. Fliegert, J. M. Watt, A. Schöbel, M. D. Rozewitz, C. Moreau, T. Kirchberger, M. P. Thomas, W. Sick, A. C. Araujo, A. Harneit, *et al.*, Ligand-induced activation of human TRPM2 requires the terminal ribose of ADPR and involves Arg1433 and Tyr1349. *Biochem. J.* **2017**, *474*, 2159–2175.
- [148] C. S. Ho, C. W. K. Lam, M. H. M. Chan, R. C. K. Cheung, L. K. Law, L. C. W. Lit, K. F. Ng, M. W. M. Suen, H. Tai, Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *Clin. Biochem. Rev.* **2003**, *24*, 3.
- [149] M. Karlsson, C. Zhang, L. Méar, W. Zhong, A. Digre, B. Katona, E. Sjöstedt, L. Butler, J. Odeberg, P. Dusart, *et al.*, A single-cell type transcriptomics map of human tissues, *Sci. Adv.* **2022**, *7*, eabh2169.
- [150] ENPP1, The Human Protein Atlas, zu finden unter: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000197594-ENPP1/tissue>, **letzter Zugriff: 29.12.2022**.
- [151] P. J. Taylor, Matrix effects: the Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Clin. Biochem.* **2005**, *38*, 328–334.

11 Danksagung

Ich möchte Herrn Prof. Dr. Chris Meier für die interessante Aufgabenstellung, der ermöglichten Teilnahme am SFB1328 sowie dem gewährten wissenschaftlichen Freiraum bedanken. Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem möchte ich für die Übernahme des Zweitgutachtens danken.

Ein Dank gilt allen Mitarbeitern der NMR- und MS-Abteilung für das Messen unzähliger Spektren und der stets freundlichen Unterstützung. Hervorheben möchte ich die gute Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Thomas Hackl und Frau Dr. Maria Riedner. Im Besonderen bei Frau Dr. Maria Riedner möchte ich mich für die hilfreiche Unterstützung zur Durchführung der LC-MS-Verfolgung der Hydrolyseexperimente bedanken. Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Dr. Ralf Fliegert und Winnie Riekehr für die Herstellung des HEK-Zellextrakts und dem wissenschaftlichen Austausch danken.

Für die Unterstützung bei der praktischen Arbeit möchte ich mich bei Sandra Gajewsky und Melanie Kock bedanken. Ein besonderer Dank gilt Sarah Claas und Celine Fischer, die mir durch ihren Fleiß und Tatendrang eine riesige Hilfe waren und zum Fortschritt der praktischen Arbeit deutlich beigetragen haben. Ich bin mir sicher, dass dieses Projekt in Celines fähigen Händen gut aufgehoben ist.

Zusätzlich möchte ich mich bei allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern des AK Meier für jegliche Hilfe und Unterstützung bei sowohl praktischen sowie theoretischen Problemstellungen bedanken. In diesem Zusammenhang möchte ich mich besonders bei Team Typ bedanken, mit dessen Mitgliedern es nie langweilig und stets unterhaltsam war. Danke für viele unvergessliche Momente! Hervorheben möchte ich Sarah Krukenberg für ihre stets angenehme Gesellschaft und Michelle Vogts für ihre Unterstützung bei jeder Fragestellung bezüglich Massenspektrometrie.

Ich möchte mich auch bei Sahra Tajdar für die gemeinsame Zeit im Labor bedanken. Mein tiefster Dank gilt Dr. Conny Laubach, welche allein durch ihre Aura eine positive Stimmung und viel Motivation ins Labor gebracht hat. Jeder Tag mit ihr im Labor war von Spaß und Freude geprägt. Für die vielen besonderen Momente, Gespräche gefüllt mit Quatsch und Wissenschaft und vor allem ihren Hilfestellungen bin ich ihr wirklich dankbar!

Meinen Freunden aus Unikreisen und denen außerhalb der Uni möchte ich auch danken, besonders hervorheben möchte ich hier Stephanie Watermann, Dr. Denise Oetzmann, Dr. Katharina Hirte, Dr. René Bachmann, Christina Lang, Jasmin Janneschütz, Rebecca Häußinger, Lena Schimmelpfennig und Jonas Brammer.

Ein tiefer Dank gilt meinen Eltern und meinem Bruder, die mich über die Jahre des gesamten Studiums stets unterstützt und angefeuert haben.

Nicht zu vergessen ist mein Dank an Dr. Nils Jeschik für seine kritischen Augen, aber besonders für seine Unterstützung als Mentor und guter Freund.

Zuletzt gilt mein größter und herzlichster Dank Dr. Caroline Schmitt, die mich dank ihrer liebevollen Art aus jedem Motivationstief heben konnte und mir immer gut zugesprochen hat. Für jeden Tag ihrer Unterstützung kann ich mich nicht genug bedanken. Vielen, vielen Dank!

12 Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Hamburg, den 29.03.2023