



Universität Hamburg  
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

FAKULTÄT  
FÜR MATHEMATIK, INFORMATIK  
UND NATURWISSENSCHAFTEN  
FACHBEREICH  
CHEMIE

# Synthese von membranpermeablen, stabilisierten, lipophil maskierten und *photocaged* NAADP-Derivaten

Synthesis of membrane permeable, stabilised, lipophilically masked and photocaged  
NAADP derivatives

## Dissertation

Zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

Doctor rerum natrum

*Dr. rer.nat.*

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Fachbereich Chemie, Institut für Organische Chemie

der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Sarah Elisabeth Krukenberg**

**Hamburg**

**2025**



Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des SFB1328 am Institut für Organische Chemie des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. Chris Meier durchgeführt. Der zeitliche Rahmen der Arbeit erstreckte sich von Dezember 2020 bis Februar 2025.

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. Ralph Holl

Datum der Disputation: 09.05.2025

Datum der Druckfreigabe: 23.05.2025



*„Lass dich nicht unterkriegen;  
sei frech, wild und wunderbar.“*

Astrid Lindgren



# Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	1
2	Abstract.....	4
3	Einleitung.....	7
4	Kenntnisstand.....	10
4.1	Ca <sup>2+</sup> -freisetzende sekundäre Botenstoffe.....	10
4.2	Ca <sup>2+</sup> -freisetzender sekundärer Botenstoff NAADP.....	11
4.2.1	Struktur-Aktivitätsbeziehungen am NAADP.....	12
4.2.2	NAADP im Kontext von Immunität und Entzündung.....	15
4.2.3	NAADP Synthese und Metabolismus <i>in vitro</i> .....	16
4.2.4	NAADP induzierte Ca <sup>2+</sup> -Freisetzung nach der Aktivierung von T-Zellen.....	19
4.3	Das Maskenkonzept zur Steigerung der Lipophilie.....	20
4.3.1	Maskierungskonzept zur Steigerung der Lipophilie vom NAADP.....	21
4.4	Photolabile Masken.....	24
4.4.1	2-Nitrobenzylphotoschutzgruppen.....	25
4.4.2	<i>Photocaged</i> NAADP.....	28
5	Aufgabenstellung.....	31
6	Resultate und Diskussion.....	33
6.1	Synthese des 3'-F-MASTER NAADPs.....	33
6.1.1	Synthese des 3'-Desoxy-F-Adenosins.....	37
6.1.2	Synthese des 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(3'-desoxy-3'-fluoradenosin)- 2',5'-diphosphats.....	48
6.1.3	Synthese des maskierten Benzoessäureester-Monophosphats.....	52
6.1.4	Kupplung zum 3'-F-MASTER-NAADP.....	59
6.2	Biologische Testung vom 3'-F-MASTER-NAADP.....	63
6.3	Synthese einer 3'-F-MASTER-Referenzverbindung.....	65
6.4	Synthese des 3'-OMe-MASTER-NAADPs.....	69
6.4.1	Synthese von 3'-OMe-Adenosin.....	71

6.4.2	Synthese des 2',-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(3'-OMe-Adenosin)-2',5'-diphosphats.....	80
6.4.3	Kupplung zum 3'-OMe-MASTER-NAADP .....	82
6.5	Synthese des 3'-OMe-MASTER-NADPs.....	83
6.6	Hydrolyseverhalten von 3'-OMe-MASTER-NAADP und -NADP .....	88
6.7	Biologische Tests vom 3'-OMe-MASTER-NAADP und 3'-OMe-MASTER-NADP..	94
6.8	Synthese der MeNV-3'-OMe-MASTER Verbindungen.....	96
6.8.1	Synthese des MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADPs .....	98
6.8.2	Synthese des MeNV-3'-OMe-MASTER-NADPs .....	102
6.9	Hydrolyse- und Photolyseverhalten der MeNV-3'-OMe-MASTER-Derivate .....	104
6.10	Synthese des NV-3'-OMe-MASTER-NAADPs.....	107
6.10.1	Synthese des <i>photocaged</i> Monophosphats.....	108
6.10.2	Synthese des 2',-(4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl))-(3'-Methoxyadenosin)-2',5'-diphosphats.....	112
6.10.3	Kupplung zum NV-3'-OMe-MASTER-NAADP .....	115
6.11	Hydrolyse- und Photolyseverhalten des NV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats	116
6.12	Synthese der Benzoesäure- und Benzamid-3'-OMe-MASTER-Derivate .....	119
6.12.1	Synthese des Benzoesäure-Monophosphats .....	121
6.12.2	Synthese des 2',-(Bis-O-(4-dodecanoyloxybenzyl))-(3'-OMe-Adenosin)-2',5'-diphosphats.....	122
6.12.3	Kupplung der Benzoesäure-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivate.....	123
6.12.4	Synthese des Benzamid-3'-OMe-MASTER-NADPs .....	126
6.13	Hydrolyseverhalten der Carbonsäure- und Amid-MASTER-Derivate.....	128
6.14	Fazit und Ausblick.....	130
7	Experimenteller Teil .....	132
7.1	Allgemeines .....	132
7.1.1	Edukte und Reagenzien .....	132
7.1.2	Lösungsmittel und Puffer.....	132
7.1.3	Chromatographie .....	134
7.1.4	Spektroskopie und Spektrometrie .....	135

7.1.5	Weitere Geräte .....	136
7.1.6	Molekulare Modellierung.....	137
7.1.7	Hydrolysestudien in PBS-Puffer.....	137
7.1.8	Enzymatische Hydrolysestudien mit PLE.....	137
7.1.9	Photolysestudien .....	138
7.1.10	Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsstudien.....	138
7.2	Synthesen .....	139
7.2.1	Synthese des 3'-F-Adenosinmonophosphats.....	139
7.2.2	Synthese der unterschiedlichen 3'-OMe-Adenosinmonophosphate .....	153
7.2.3	Synthese unterschiedlich modifizierter C-glykosidischer Nicotinsäurenucleosidmonophosphate .....	186
7.2.4	Synthese unterschiedlich modifizierter C-glykosidischer Nicotinamidnucleosidmonophosphate.....	203
7.2.5	Synthese unterschiedlicher MASTER-NAADP-Derivate .....	210
7.2.6	Synthese der unterschiedlichen MASTER-NADP-Derivate.....	220
8	Literaturverzeichnis .....	225
9	Gefahrstoffverzeichnis.....	240
9.1	Verwendete Gefahrstoffe.....	240
9.2	Verwendete KMR-Stoffe .....	249
10	Danksagung .....	250
11	Eidesstattliche Versicherung .....	252



## Publikationsliste

### Paper

- P1 Krukenberg, S.; Möckl, F.; Weiß, M.; Dekiert, P.; Hofmann, M.; Gerlach, F.; Winterberg, K.; Kovacevic, D.; Khansahib, I.; Troost, B.; Hinrichs, M.; Granato, V.; Nawrocki, M.; Hub, T.; Tsvilovskyy, V.; Medert, R.; Woelk, L. M.; Förster, F.; Li, H.; Werner, R.; Altfeld, M.; Huber, S.; Clarke, O. B.; Freichel, M.; Diercks, B. P.; Meier, C.; Guse, A. H. MASTER-NAADP: a membrane permeable precursor of the Ca<sup>2+</sup> mobilizing second messenger NAADP, *Nat. Commun.* **2024**, 15, 8008.

### Poster und Präsentationen

- P2 Krukenberg, S.; Möckl, F.; Weiß, M.; Hofmann, M.; Diercks, B.; Guse, A.; Meier, C. Total Synthesis of MASTER-NAADP Derivatives. **2024**, Poster Präsentation, International Round Table (IRT), Tokio, Japan.
- P3 Hofmann, M.; Krukenberg, S. Total Synthesis of MASTER-NAADP-Derivatives, **2023**, Poster und Präsentation, SFB Retreat, Bad Segeberg.
- P4 Schneider, T.; Krukenberg, S.; Membrane permeable Nucleotides for application in Chemical Biology. **2022**, Präsentation, SFB Retreat, Timmendorfer Strand.
- P5 Krukenberg, S.; Hofmann, M. Total Synthesis of MASTER-NAADP Derivatives, **2022**, Poster Präsentation, SFB Retreat, Timmendorfer Strand.
- P6 Hofmann, M.; Krukenberg, S.; Dekiert, P. Total Synthesis of membrane permeable NAADP analogues, **2021**, Poster Präsentation, SFB Retreat, Poster, Timmendorfer Strand.

## Abkürzungen und Symbole

$\delta$	chemische Verschiebung (NMR)
$\lambda$	Wellenlänge
Å	Angström
A	Adenin
AB	Acyloxybenzyl
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
ACB	Alkoxy-carbonyloxybenzyl
AcOH	Essigsäure
Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
Äquiv.	Äquivalent
AZT	Azidothymidin
BAB	Bis-(acyloxybenzyl)ester
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
BSA	<i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamid
Bz	Benzoyl
Ca <sup>2+</sup>	Calciumion
cADPR	cyclische Adenosindiphosphat-ribose
CD38	<i>cluster of differentiation 38</i>
CDCl <sub>3</sub>	Deuteriochloroform
CEM/0	humane T-Lymphozyten-Zelllinie (Wildtyp)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlormethan
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitril
CH <sub>3</sub> OH	Methanol
CICR	<i>calcium-induced calcium release</i>
d	Dublett
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	4,5-Dicyanoimidazol
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett (NMR)
demin.	demineralisiert
dest.	destilliert

DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
D <sub>2</sub> O	Deuteriumoxid
DUOX2	duale NAADPH-Oxidase
Et <sub>3</sub> N	Triethylamin
EE	Ethylacetat/ Essigsäureethylester
EI	Elektronenstoß-Ionisation
eq.	Moläquivalent
ER	endoplasmatische Retikulum
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et <sub>3</sub> N	Triethylamin
G6P-DH	Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde
HN1L	<i>hematological and neurological expressed 1-like protein</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution</i> Massenspektrometrie
IP <sub>3</sub>	Inositol-1,4,5-triphosphat
IP <sub>3</sub> R	IP <sub>3</sub> -Rezeptor
IR	Infrarotspektroskopie
<i>J</i>	Kern-Kern-Kopplungskonstante im NMR
JPT2	<i>jupiter microtubule-associated homolog 2</i>
kat.	katalytisch
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kaliumcarbonat
konz.	konzentriert
logP	Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
Lsm12	<i>Sm-like protein</i>
M	Molarität [mol/L]
m	Multipllett
MASTER	<b><i>Membran permeAble, STabilized, biorEversibly pRotected</i></b>
Me	Methyl
MeNV	Methyl-Nitroveratryl
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplexe ( <i>major histocompatibility complex</i> )
min	Minute

mL	Milliliter
mM	Millimolar
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
NAADP	Nicotinsäureadeninucleotidphosphat
NAD	Nicotinamidadeninucleotid
NADP	Nicotinamidadeninucleotidphosphat
NB	Nitrobenzyl
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i> (Kernresonanz)
NPE	Nitrophenylethyl
NV	Nitroveratryl
p.	<i>page</i>
PBS	<i>phosphate buffer saline</i>
PE	Petrolether
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PLE	Schweineleberesterase ( <i>pig liver esterase</i> )
PPG	photolabile Schutzgruppe ( <i>photoremovable protecting groups</i> )
ppm	<i>parts per million</i>
PyTFA	Pyridiniumtrifluoracetat
q	Quartett
$R_f$	Retentionsfaktor
RP	<i>reversed phase</i>
Rt	Raumtemperatur
RyR	Ryanodin-Rezeptor
s	Singulett
SARM1	<i>sterile alpha and TIR motif-containing 1</i>
Sdp.	Siedepunkt
SOCE	<i>store-operated Ca<sup>2+</sup> entry</i>
SR	sarkoplasmatische Retikulum
t	Triplett
TG-Methode	Thermogravimetrische-Methode
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> - Butyldimethylsilyl
TEAB	Triethylammoniumbicarbonat-Puffer
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid

THF	Tetrahydrofuran
TMP	Trimethylphosphat
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluoromethansulfonat
TPC	<i>two-pore-channel</i>
v/v	Volumenverhältnis
Verb.	Verbindung
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem



# 1 Zusammenfassung

Die Fähigkeit, externe Signale von außen wahrzunehmen, zu verarbeiten und gezielt auf diese zu reagieren ist eine existenzielle Eigenschaft aller lebenden Organismen.<sup>[1]</sup> In den meisten Fällen werden die Signale, auf die eine Zelle mit spezifischen Antworten reagiert, auf chemischem Wege durch Botenstoffe weitergeleitet. Durch die Bindung von Signalmolekülen (primären Messenger) an entsprechende Rezeptoren werden wichtige intrazelluläre Prozesse ausgelöst, die zu physiologischen Reaktionen führen.<sup>[1,2]</sup> Durch die Ligandenbindung verändert sich die Proteinkonformation des Rezeptors, die die Produktion oder die Freisetzung eines sekundären Botenstoffs katalysieren. Sekundäre Botenstoffe leiten die aufgenommenen Signale weiter, in dem sie intrazellulär an spezifische Proteine binden.<sup>[3]</sup> Ein zentraler und universeller sekundärer Botenstoff der zellulären Kommunikation ist dabei das Calciumkation. Das Calciumion ist ein potentes Werkzeug zur Regulation einer Reihe grundlegender Prozesse auf zellulärer Ebene.<sup>[4,5]</sup> Die Ausschüttung der Calciumionen aus intrazellulären Speichern ist im hohen Maße von sekundären Botenstoffen, wie dem Nicotinsäureadeninucleotidphosphat (NAADP) abhängig.<sup>[6,7]</sup> Bereits geringe Konzentrationen von NAADP sind in der Lage,  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in Zellen zu mobilisieren. Durch Messungen in verschiedenen Zellsystemen konnte gezeigt werden, dass NAADP in einem Konzentrationsbereich von 10 bis 100 nM wirksam ist.<sup>[8]</sup>

Bis heute sind jedoch die Art der Aktivierung und die Zielkanäle des NAADPs noch nicht vollständig verstanden. Für die Untersuchung der NAADP-induzierten Signaltransduktion ist es daher von großer Bedeutung, NAADP direkt in die Zelle einzuführen. Der bekannte  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Botenstoff NAADP ist bei physiologischem pH-Wert jedoch geladen und aus diesem Grund nicht membranpermeabel. Um jedoch die Wirkung dieser Botenstoffe in intakten Zellen untersuchen zu können, wurden bisher aufwendige, technisch anspruchsvolle und invasive Methoden angewendet. Da diese Methoden allerdings durch die bloße Anwendung im Zellsystem Stress auslösen können, beeinträchtigen sie oftmals signifikant die Ergebnisse in Untersuchungen zur NAADP-Signalübertragung.<sup>[9,10,11]</sup> Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, soll das Maskieren des polaren NAADPs, ähnlich wie beim bekannten *Prodrug*-Konzept, die Membranpermeabilität dieser Verbindung gewährleisten. Nach passiver Diffusion der Verbindung durch die Zellmembran ins Zellinnere, können die lipophilen Masken durch chemische oder enzymatische Hydrolyse entfernt werden. Dadurch wird das aktive NAADP-Derivat innerhalb der Zelle freigesetzt.<sup>[12,13]</sup>

In der Forschungsgruppe um MEIER wurde in den letzten Jahren bereits in Arbeiten von RUTHENBECK<sup>[14]</sup> und DEKIERT<sup>[15]</sup> an der Entwicklung einer Totalsynthese eines *Membrane permeAble, STabilized, biorEversibly pRotected* (MASTER) NAADP-Derivats gearbeitet. Die Synthese dieses Derivats sollte dabei ein einfaches und effizientes Mittel sein, um das stabilisierte und modifizierte NAADP-Derivat in Zellen zu applizieren. Das 3'-OH-MASTER-NAADP wurde bereits von DEKIERT<sup>[15]</sup> synthetisiert und in der Arbeitsgruppe um GUSE untersucht. Da in diesen Zelluntersuchungen eine intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung nachgewiesen werden konnte, sollte dieses MASTER-NAADP-Derivat als Leitstruktur dienen. Bei dem von DEKIERT synthetisierten Derivat wurde jedoch die Nicotinsäure-Einheit des NAADPs durch ein Benzoessäure-Motiv substituiert. Der Grund dafür war, dass die labile N-glykosidische Bindung den synthetischen Zugang signifikant erschwerte.<sup>[15]</sup>

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden, ausgehend von der beschriebenen Leitstruktur, weitere modifizierte MASTER-NAADP-Derivate synthetisiert. Die Darstellung dieser neuartigen MASTER-Verbindungen erfolgte aufgrund der Beobachtung, dass bei der 3'-OH-MASTER-Verbindung eine Migration der maskierten 2'-Phosphatgruppe beobachtet wurde.<sup>[14,15]</sup> Um diese Migration zu unterbinden erfolgte in dieser Arbeit die Darstellung von 3'-F-MASTER-NAADP (Abschnitt 6.1, S. 32-61) und 3'-OMe-MASTER-NAADP (Abschnitt 6.4, S. 68-81). Beide Derivate konnten in hoher Reinheit und ausreichender Menge für die zellbiologischen Tests erhalten werden. Die Fähigkeit der Verbindungen intrazellulär Ca<sup>2+</sup> freizusetzen wurden in der Arbeitsgruppe um GUSE in Jurkat T-Zellen, NK-Zellen und Neuro2A-Zellen untersucht. Das 3'-F-MASTER-Derivat induzierte in allen Zelltypen erfolgreich Ca<sup>2+</sup>-Mikrodomänen. Das 3'-F-MASTER-NAADP scheint ein generell geeignetes Molekül für die Studien zur NAADP-Signaltransduktion zu sein und kann zur Untersuchung von NAADP-vermittelten Ca<sup>2+</sup>-freisetzenden Signalprozessen in unterschiedlichen Zelltypen eingesetzt werden (Abschnitt 6.2, S. 66-67). Weil die 3'-OMe-Verbindung in den zellbiologischen Testungen vergleichbare Ergebnisse zum 3'-F-Derivat lieferte und es gleichzeitig synthetisch leichter zugänglich ist, sollten weitere Modifikationen an den Maskierungseinheiten am 3'-OMe-Derivat erfolgen.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit erfolgten ausgehend von der 3'-OMe-MASTER-NAADP-Grundstruktur Variationen der verwendeten Maskierungseinheiten (Abschnitt 6.8 und Abschnitt 6.10). Diese Derivate bestehen aus einer Kombination der bereits verwendeten Acyloxybenzyl (AB)-Masken und photospaltbaren Masken. Die Darstellung dieser Derivate erfolgte, da das bis zu diesem Zeitpunkt verwendete Maskenkonzept für eine unspezifische Freisetzung durch Enzyme und Nucleophile in der Zelle sorgt. Durch den Einsatz der MeNV und NV-Masken bietet sich die Möglichkeit, sowohl eine orts- als auch eine zeitabhängige spezifische Spaltung der Photomasken mit Licht einer bestimmten

Wellenlänge in der Zelle zu kontrollieren. Es wurde eine Kombination aus beiden Maskenkonzepten genutzt, um eine ausreichende Lipophilie der Derivate sicherzustellen.

Die charakteristische Instabilität der *N*-glykosidischen Bindung des Nicotinsäurenucleosids wurde durch die Maskierung der negativen Ladung des Carboxylats verstärkt und erschwert den Zugang zu maskierten Derivaten mit nativer Grundstruktur.<sup>[15]</sup> Aus diesem Grund wurde im dritten Teil dieser Arbeit ein zweifach lipophil maskiertes MASTER-NAADP-Derivat synthetisiert, um die Relevanz der Maskierungseinheit am oberen Baustein zu untersuchen (Abschnitt 6.11). Dies soll dazu dienen, einen Weg zu finden, in Zukunft möglichst wieder zurück zur nativen Struktur des sekundären Botenstoffs zurückzukehren. Dafür wurden die Kettenlängen der Maskierungseinheiten modifiziert, um durch die Erhöhung der Lipophilie dieser Masken die erhöhte Polarität des Derivats zu kompensieren. Sollte eine Membranpermeabilität dieser Verbindung zukünftig nachgewiesen werden, soll das Benzoessäure-Motiv durch die Nicotinsäure ersetzt werden, um die Relevanz der positiven Ladung des Nicotinsäurebausteins des NAADPs zu untersuchen.

Es wurde zu allen Verbindungen, deren Eigenschaften zellbiologisch untersucht wurden, ein Derivat als Negativkontrolle synthetisiert. Bei diesen handelt es sich um das jeweilige NADP-Analogon der stabilisierten und lipophil maskierten NAADP-Derivate.

## 2 Abstract

The ability to perceive, process and react to external signals is an existential characteristic of all living organisms.<sup>[1]</sup> In most cases, the signals to which a cell reacts with specific responses are chemically mediated by messengers. The binding of signal molecules to the corresponding receptors triggers important processes that lead to physiological reactions.<sup>[1,2]</sup> Ligand binding changes the protein conformation of the receptor, which catalyses the production or release of a second messenger. Second messengers transmit incoming signals intracellularly by binding to specific proteins.<sup>[3]</sup> A central and universal second messenger of cellular communication is the calcium ion. The bivalent calcium cation is a potent tool for regulating a number of fundamental processes at the cellular level.<sup>[4,5]</sup> The release of calcium ions from intracellular storages is highly dependent on second messengers such as nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP).<sup>[6,7]</sup> Even low concentrations of NAADP are able to mobilise  $\text{Ca}^{2+}$  ions in cells. Measurements in various cell types have shown that NAADP is effective in a concentration range of 10 to 100 nM.<sup>[8]</sup>

Until today, the exact mode of activation and the target channels of NAADP are not yet completely understood. Thus, for the investigation of NAADP-induced signal transduction, it is of great importance to introduce NAADP directly into the cell. However, at physiological pH the known  $\text{Ca}^{2+}$  releasing messenger NAADP is negatively charged and thus not membrane permeable. To date, technically demanding and potentially invasive methods have been used to investigate the effect of these messengers in intact cells. As these methods can trigger stress in the cell system simply by using them, they often significantly affect the results in studies on NAADP signaling.<sup>[9,10,11]</sup> To circumvent these difficulties, the lipophilic masking of the polar NAADP, similar to the well known prodrug concept, is intended to ensure the membrane permeability of this compound. After translocation into the cell interior by passive diffusion, the lipophilic masking units can be removed by chemical or enzymatic hydrolysis. This releases the active NAADP derivative inside the cell, that can readily trigger signal transduction pathways inside the cell.<sup>[12]</sup>

In recent years, the working group around MEIER has already been working on the development of a total synthesis of a **M**embrane perme**A**ble, **S**Tabilised, bio**E**versibly p**R**otected (MASTER) NAADP derivative in studies by RUTHENBECK and DEKIERT.<sup>[14,15]</sup> The synthesis of this derivative should be a simple and efficient method to apply the stabilized and modified NAADP derivative in cells. The 3'-OH-MASTER-NAADP has already been synthesized by DEKIERT<sup>[15]</sup> and investigated in the working group of GUSE. Since intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release was detected in these cell studies, this MASTER-NAADP derivative was intended to serve as a lead structure. In the case of the derivative synthesized by DEKIERT,

the nicotinic acid moiety of the NAADP was substituted by a benzoic acid motif. This was done due to the fact that the labile *N*-glycosidic bond made synthetic access significantly more difficult.<sup>[15]</sup>

In the first part of this work, further stabilized MASTER-NAADP derivatives were synthesized on the basis of the selected lead structure. The synthesis of these two novel MASTER compounds was based on the fact that a migration of the masked 2'-phosphate group was observed in the case of the 3'-OH-MASTER compound.<sup>[14,15]</sup> In order to prevent this migration, the synthesis of 3'-F-MASTER-NAADP (Section 6.1, p. 32-61) and 3'-OMe-MASTER-NAADP (Section 6.4, p. 68-81) followed in this work. Both derivatives were obtained in high purity and sufficient quantities for cell biological tests. The ability of these compounds to release Ca<sup>2+</sup> intracellularly was investigated in Jurkat T cells, NK cells and Neuro2A cells by the research group of GUSE. The 3'-F-MASTER-NAADP appears to be a generally suitable molecule for NAADP signaling studies and can be used to study NAADP mediated Ca<sup>2+</sup> releasing signaling processes in different cell types (Section 6.2, p. 66-67). Because the synthetically easier accessible 3'-OMe compound showed comparable results to the 3'-F derivative in the cell biological tests, further modifications to the masking units should be carried out on this derivative.

In the second part of this work, variations of the masking units were made on the basis of the 3'-OMe-MASTER-NAADP basic structure (Section 6.8 and Section 6.10). These derivatives consist of the already used acyloxybenzyl (AB) masks and newly introduced photocleavable masks. The derivatives were synthesized since the use of acyloxybenzyl masking units only leads to a non specific intracellular release by enzymes and nucleophiles in the cell. The use of MeNV and NV masks, however, offers the possibility of a temporally defined cleavage of the masking units inside the cell using light with a specific wavelength. A combination of both concepts was used to ensure sufficient lipophilicity of the derivatives.

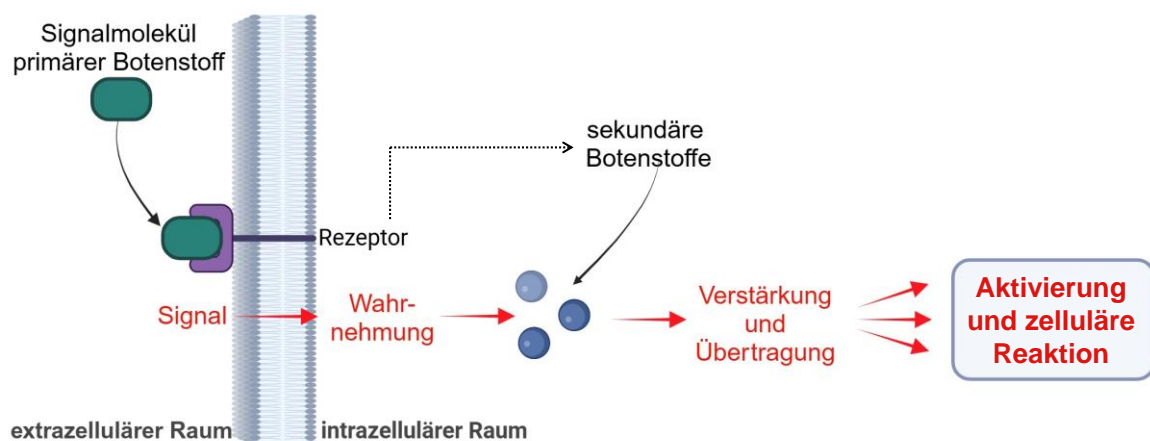
The characteristic instability of the *N*-glycosidic bond of nicotinic acid nucleoside was increased by masking the negative charge of the carboxylate moiety, thus making access to derivatives with a native core structure more difficult.<sup>[15]</sup> Therefore, a double lipophilically masked MASTER-NAADP derivative was synthesized in the third part of this work to investigate the relevance of the masking unit on the upper building block (Section 6.11). This is intended to find a way to return to the native structure of the second messenger in the future. To this end, the chain length of the masking units was modified to compensate for the increased polarity of the derivative. In case this compound proves to be membrane permeable in the future, the benzoic acid motif will be replaced by nicotinic acid so that the significance of the positive charge in the nicotinic acid building block of the NAADP can be investigated.

A derivative was synthesized as a negative control for all compounds whose biological properties were studied in cell cultures. These reference compounds are the respective NADP analogues of the stabilised and lipophilically masked NAADP derivatives.

### 3 Einleitung

Eine der grundlegenden Eigenschaften des Lebens ist die Fähigkeit, Signale von außen aufzunehmen und gezielt darauf zu reagieren.<sup>[1]</sup> Während bei der Signaltransmission eine Nachricht an benachbarte Zellen weitergeleitet wird, typischerweise geschieht dies über Nervenleitungen und Synapsen, wird bei der Signaltransduktion ein Signal über eine Zellmembran ins Zellinnere weitergeleitet. Meistens werden die Signale, auf die die Zellen mit spezifischen Antworten reagieren, chemisch durch Botenstoffe vermittelt. Durch die Bindung von Signalmolekülen (primäre Messenger) an die entsprechenden molekularen Rezeptoren werden wichtige Prozesse ausgelöst. Dies führt schließlich zu wichtigen physiologischen Reaktionen.<sup>[1,2]</sup> Der primäre Botenstoff bindet an den Rezeptor der Zielzelle. Der Grund dafür ist die meist hydrophile Natur dieser primären Botenstoffe. Lipophile Signalstoffe können durch freie oder erleichterte Diffusion durch die Zellmembran ins Cytosol gelangen. Hydrophile Signalstoffe hingegen können nicht ohne Weiteres durch die Plasmamembran diffundieren. Damit das Signal dennoch durch die Plasmamembran der Zielzelle ins Zellinnere gelangen kann, binden die primären Botenstoffe an spezifischen Rezeptoren, die auf der Außenseite der Zellmembran lokalisiert sind und das Signal wird übertragen.<sup>[16,17]</sup> Solche Rezeptoren sind Transmembranproteine, die eine extra- und eine intrazelluläre Domäne besitzen.<sup>[2,3]</sup>

Die schematische Darstellung der Signaltransduktion ist in Abbildung 3.1 gezeigt.



**Abb. 3.1:** schematische Darstellung der Signaltransduktion. Ein Signalmolekül (primärer Botenstoff) wechselwirkt mit einem Rezeptor. Es erfolgt die Bildung oder Freisetzung eines sekundären Botenstoffs. Die Signaltransduktion durchläuft mehrere Einzelschritte, bevor ein Signal eine Reaktion der Zelle auslöst.<sup>[2]</sup>

Durch die Ligandenbindung verändert sich die Proteinkonformation des Rezeptors so, dass auf der intrazellulären Seite eine strukturelle Veränderung hervorgerufen wird und

nahegelegene Effektorproteine stimuliert werden, die die Produktion oder die Freisetzung (im Fall von Ionen) des Botenstoffs katalysieren.<sup>[2,3]</sup> Sekundäre Botenstoffe sind Moleküle, die von den Zelloberflächenrezeptoren empfangene Signale intrazellulär an Effektorproteine weiterleiten, dadurch aktiviert werden und direkt auf die physiologische Reaktion einwirken. Die sekundären Botenstoffe sind meist in geringen Konzentrationen bereits in der ruhenden Zelle vorhanden und werden schnell produziert oder freigesetzt, wenn die Zelle stimuliert wird. Sekundäre Botenstoffe können an spezifische Proteine binden, um deren Aktivität zu verändern und Signale weiterzuleiten. Die Aktivierung mehrerer Proteine durch ein einzelnes *second messenger* Molekül führt zur Verstärkung des Signals.<sup>[3]</sup>

Es gibt unterschiedliche Klassen von sekundären Botenstoffen. Sie unterteilen sich in cyclische Nucleoside und andere lösliche Moleküle, die im Cytosol Signale aussenden können, Lipid-Botenstoffe, die ihre Signale innerhalb der Zellmembran aussenden, Ionen, die innerhalb als auch zwischen den Zellkompartimenten Signale aussenden können und Gase und freie Radikale. Diese können in der Zelle und in benachbarten Zellen Signale aussenden.<sup>[3]</sup>

Als ein zentraler universeller Botenstoff zur Zellkommunikation fungiert das Calciumion ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Dieses stellt ein potentes Werkzeug dar, mit dem auf zellulärer Ebene eine Reihe fundamentaler Prozesse reguliert werden. Es tritt in einer Vielzahl verschiedener Zellsysteme als intrazellulärer Botenstoff auf.<sup>[4,5]</sup>  $\text{Ca}^{2+}$  ist ein Botenstoff, der im Gegensatz zu vielen Botenstoffen ein Ion ist, welches weder enzymatisch gebildet noch abgebaut wird. Die physiologische Wirkung von  $\text{Ca}^{2+}$  beruht auf dessen Mobilität innerhalb des Zellsystems.<sup>[18]</sup> Das  $\text{Ca}^{2+}$ -Ion ist ein sehr vielseitiger intrazellulärer Botenstoff, der ein breites Spektrum an unterschiedlichen Zellfunktionen reguliert. Es können Prozesse, wie die Proliferation der T-Zellen<sup>[19]</sup>, die Auslösung der Kontraktionen von glatter und quergestreifter Muskulatur<sup>[20]</sup>, Apoptose, Exozytose, Befruchtung von Eizellen und neuronale Signalübertragungen mit Hilfe von  $\text{Ca}^{2+}$  gesteuert werden.<sup>[21]</sup> Der räumliche und zeitliche Ablauf dieser zellulären Mechanismen ist je nach Prozess sehr unterschiedlich. So ist zum Beispiel für die Aktivierung von T-Zellen ein langsamer, aber lang anhaltender Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration fundamental.<sup>[22]</sup> Wohingegen für die Kontraktion von Herzzellen ein sehr regelmäßiges  $\text{Ca}^{2+}$ -Signal wichtig ist, das bereits in Millisekunden ausgelöst wird.<sup>[23]</sup> Die Tatsache, dass das Calciumion als Botenstoff in einer so großen Vielfalt von Zellsystemen auftritt, ist nur aufgrund seines steilen  $\text{Ca}^{2+}$ -Gradienten zwischen dem Cytosol, dem extrazellulären Raum und den intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Speichern möglich. Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration ist im extrazellulären Raum (ca. 1 mM) deutlich höher als im Cytosol (ca. 100 nM) und den intrazellulären Speichern (ca. 60-400  $\mu\text{M}$ ), sodass ein schneller Transport von  $\text{Ca}^{2+}$  ins Innere der Zelle gewährleistet ist.<sup>[22]</sup>

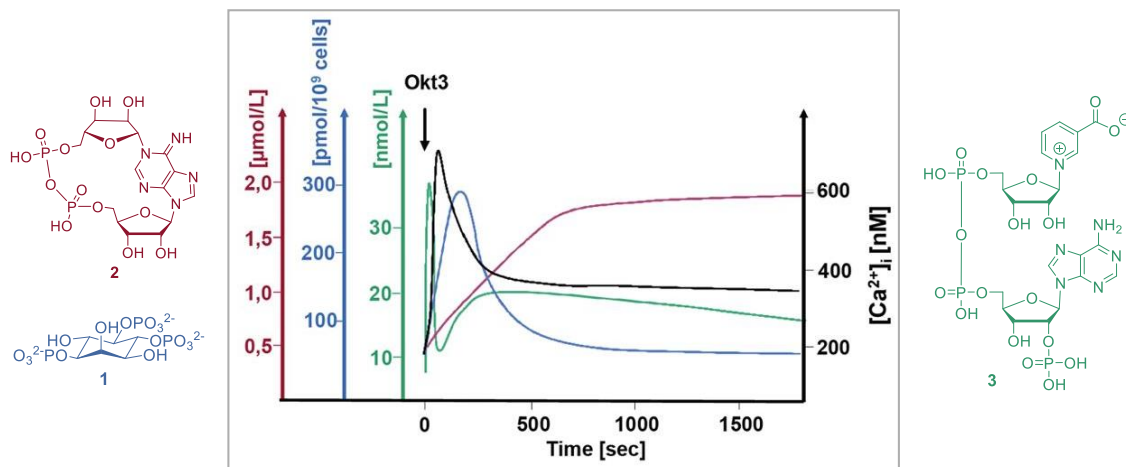
Durch die, durch einen äußeren Stimulus induzierte Freisetzung sekundärer Botenstoffe können Calciumionen aus den intrazellulären Speichern ausgeschüttet werden. Diese intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden sekundären Botenstoffe, wie Inositol-1,4,5-triphosphat ( $\text{IP}_3$ ), Adenosindiphosphatbose (cADPR) und Nicotinsäureadeninucleotidphosphat (NAADP) nehmen bei intrazellulären Prozessen des *calcium signalling* eine essenzielle Rolle ein.<sup>[7,24]</sup>

## 4 Kenntnisstand

### 4.1 $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende sekundäre Botenstoffe

Zellen verfügen über verschiedene  $\text{Ca}^{2+}$ -Speicher und zahlreiche Botenstoffe, welche die Calciumionen mobilisieren. Die Freisetzung von  $\text{Ca}^{2+}$  aus intrazellulären Speichern, wie dem endoplasmatischen Retikulum (ER), wird durch  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierende Botenstoffe, wie Inositol-1,4,5-triphosphat ( $\text{IP}_3$ ) **1**, cyclische Adenosindiphosphatbose (cADPR) **2** und Nicotinsäureadeninucleotidphosphat (NAADP) **3**, ausgelöst (die Strukturen der drei Verbindungen sind in Abb. 4.1 dargestellt).

Die drei unterschiedlichen  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierenden sekundären Botenstoffe ( $\text{IP}_3$  **1**, cADPR **2** und NAADP **3**) folgen einem zeitlich abhängigen Konzentrationsverlauf. Die Kinetik der *in vivo* Produktion der drei Botenstoffe nach Stimulation von T-Lymphozyten über den TCR/CD3-Komplex (OKT3), ist in Abbildung 4.1 dargestellt.



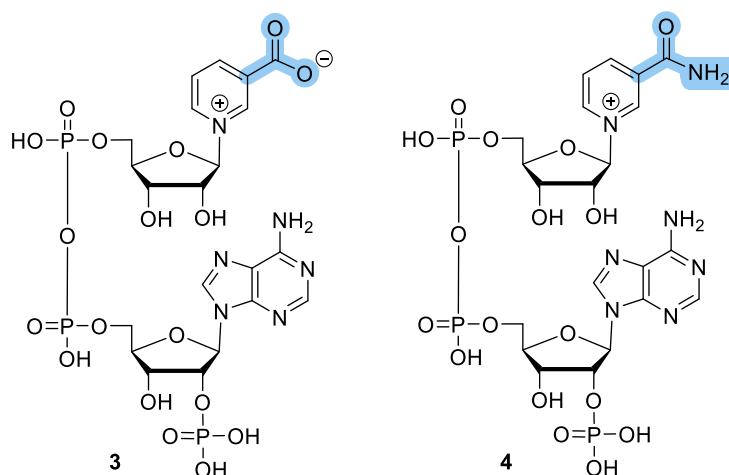
**Abb. 4.1:** Kinetik der *in vivo* simulierten Produktion der drei verschiedenen  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierenden Botenstoffe nach TCR/CD3-Ligation. Der schwarze Pfeil markiert die Stimulation der Jurkat-T-Zelle mit dem Anti-CD3-Antikörper (OKT3).<sup>[6,15,24,25]</sup> Zusätzlich sind die Molekülstrukturen der drei  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierenden Botenstoffe dargestellt. Inositol-1,4,5-triphosphat **1**, cyclische Adenosindiphosphatbose **2** und Nicotinsäureadeninucleotidphosphat **3**.

NAADP **3** wird innerhalb der ersten zehn Sekunden nach der Stimulation der Zellen über den TCR/CD3-Komplex produziert. Es erfolgt ein schneller NAADP-Anstieg von ca. 4 nM auf ca. 34 nM in den ersten zehn Sekunden. Darauf folgt ein Rückgang auf 10 nM in den nächsten zehn Sekunden. Es folgt eine zweite Produktionsphase, die nach etwa fünf Minuten ihren Höhepunkt erreicht (ca. 15 nM).<sup>[25]</sup> Die Stimulation des OKT3 (Anti-CD3-Antikörper) induziert einen langsamen, aber anhaltenden Anstieg der intrazellulären cADPR **2**. Nach der T-Zell-Anregung hat der langsame cADPR-Anstieg bei ca. 30 Minuten den höchsten Wert erreicht.<sup>[24]</sup>  $\text{IP}_3$  **1** wird mit einer Spitze bei drei Minuten produziert.<sup>[6]</sup>

Von diesen drei bereits etablierten  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierenden Botenstoffen ist NAADP **3** der potenteste und ist für die Initiierung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung unerlässlich. NAADP **3** ist in vielen Zellen bereits im nanomolaren Bereich in der Lage  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen zu mobilisieren.<sup>[26,27]</sup>

## 4.2 $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzender sekundärer Botenstoff NAADP

Im Zuge der ersten Experimente von CLAPPER *et al.* im Jahre 1987 zur  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung in Seeigel-Eihomogenaten konnte gezeigt werden, dass ein kommerzielles NADP-Präparat  $\text{Ca}^{2+}$  aus diesen Zellen freisetzt.<sup>[28]</sup> Dass die Zufuhr von NADP **4** in Seeigel-Eihomogenaten zu einer sofortigen  $\text{Ca}^{2+}$ -Mobilisierung führte, war jedoch unwahrscheinlich, da es sich beim NADP **4** um einen wichtigen Redox-Metaboliten handelt.<sup>[4]</sup> Das bedeutet, dass dieser als Auslöser für die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung nicht in Frage kam, sodass auf die Anwesenheit einer Fremdsubstanz in der von CLAPPER *et al.* genutzten Probe geschlossen wurde.<sup>[29]</sup> Nach weiteren acht Jahren konnte die Struktur der Verunreinigung von LEE und AARHUS schlussendlich als NAADP **3** identifiziert werden.<sup>[29]</sup>



**Abb. 4.2:** Molekülstrukturen des NAADPs **3** und des NADPs **4** und das farblich markierte Strukturmerkmal, in dem sich die beiden Verbindungen unterscheiden.

Die Strukturaufklärung gelang LEE *et al.* und CHINI *et al.* mittels eines HPLC (*high performance liquid chromatography*) basierten Reinigungsverfahrens.<sup>[29,30]</sup> Es wurde festgestellt, dass sich NAADP **3** lediglich durch die Substitution des Nicotinamids durch die Nicotinsäure vom NADP **4** unterschied. Die Strukturen der beiden Verbindungen sind in Abbildung 4.2 dargestellt. Die Aktivität von NAADP **3** konnte jedoch nicht nur in Seeigel-Eihomogenaten nachgewiesen werden. Die NAADP-Aktivität wurde im Anschluss auch in anderen Zellsystemen, wie in Seestern-Oozyten<sup>[31]</sup>, in Azinuszellen des Pankreas<sup>[32]</sup> sowie in T-Lymphozyten<sup>[8]</sup> beschrieben.<sup>[33]</sup> NAADP **3** wirkt auf ein breites Spektrum von Zellen, von Pflanzenzellen bis zu Säugetierzellen, was seine universelle Rolle als  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierender sekundärer Botenstoff belegt.<sup>[34]</sup>

Bereits geringe Konzentrationen von NAADP **3** sind in der Lage,  $\text{Ca}^{2+}$  in den Zellen zu mobilisieren. Durch Messungen in verschiedenen Zellsystemen konnte gezeigt werden, dass NAADP **3** in einem Konzentrationsbereich von 10 bis 100 nM wirksam ist. In Arbeiten von BERG *et al.* konnte gezeigt werden, dass Injektionen von 50 bis 100 nM NAADP **3** in T-Lymphozyten  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale auslösten, die sich über die gesamte Zelle ausbreiteten.<sup>[8]</sup> Experimente an Seeigel-Eihomogenaten zeigten, dass NAADP **3**, im Gegensatz zu anderen  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Botenstoffen, wie  $\text{IP}_3$  **1** und cADPR **2** nicht nur  $\text{Ca}^{2+}$ -Speicher, wie das endoplasmatische Retikulum (ER) und das sarkoplasmatische Retikulum (SR) aktiviert. Die Unterdrückung von  $\text{IP}_3$ - und Ryanodin-Rezeptoren hatte kaum einen Einfluss auf die durch NAADP **3** induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung.<sup>[35]</sup> Eine Studie von PATEL und DOCAMPO zeigte, dass *two pore channels* (TPCs) in der Membran von sauren, lysosomenähnlichen Organellen für die durch NAADP **3** induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung verantwortlich sind.<sup>[35,36,37]</sup> TPCs sind  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{Na}^+$ -durchlässige Kanäle. TPC1 und TPC2 werden in humanen Zellen exprimiert. Sie kontrollieren den subzellulären Transport durch das endolysosomale System, indem sie die Aufnahme physiologischer Substrate sowie die Internalisierung von Pathogenen regulieren.<sup>[38]</sup>

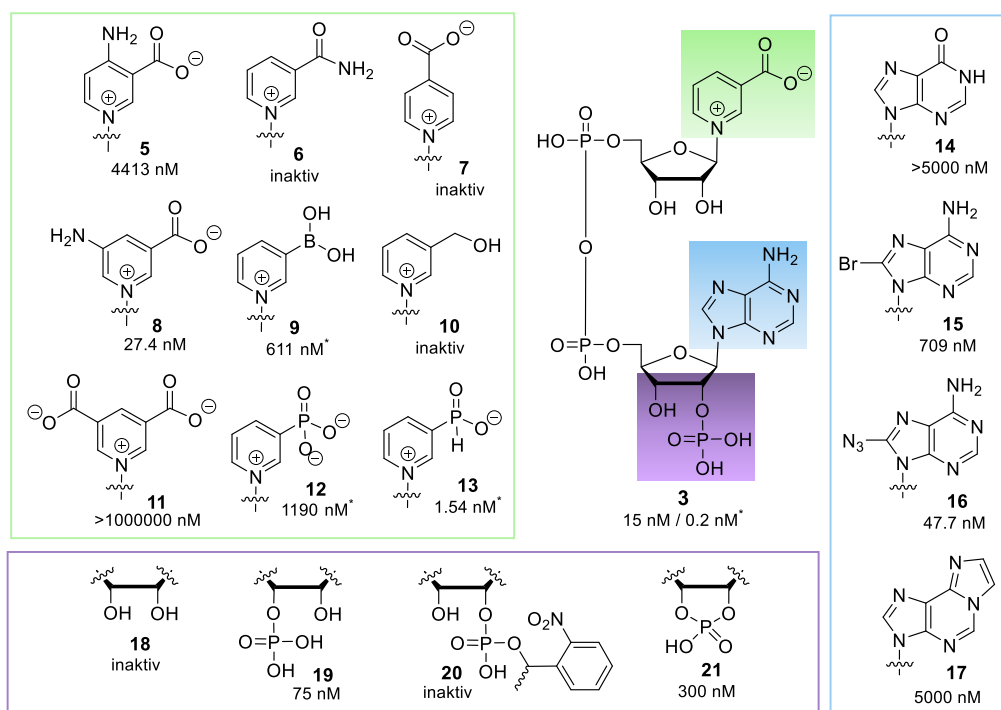
NAADP **3** hat im Vergleich zu den sekundären Botenstoffen  $\text{IP}_3$  **1** und cADPR **2** einmalige Eigenschaften. NAADP **3** ist zum Beispiel zur Selbstdesensibilisierung in der Lage. Unterschwellige Konzentrationen konnten anschließende NAADP-induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzungen in Seeigel-Eihomogenaten inaktivieren.<sup>[39,40]</sup> In Säugetierzellen, wie z.B. in T-Zellen führt eine hohe Konzentration von NAADP **3** zur Selbstinaktivierung.<sup>[41]</sup> In T-Zellen desensibilisieren 10  $\mu\text{M}$  NAADP **3** nicht nur einen NAADP-induzierten Calciumionenanstieg, sie können auch  $\text{Ca}^{2+}$ -Reaktionen, die durch andere sekundäre Botenstoffe, wie cADPR **2** (10  $\mu\text{M}$ ) und  $\text{IP}_3$  **1** (4  $\mu\text{M}$ ) oder durch TCR/CD3-Stimulation vermittelt werden, inaktivieren.<sup>[8]</sup>

#### 4.2.1 Struktur-Aktivitätsbeziehungen am NAADP

Die Strukturmerkmale des NAADPs **3**, die für die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung entscheidend sind wurden erstmals von LEE und AARHUS anhand einer Reihe verschiedener NAADP-Derivate untersucht.<sup>[42]</sup> Diese Arbeit ist die erste, die 1997 die Struktur-Aktivitätsbeziehung zwischen NAADP **3** und dessen  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Funktion in Seeigel-Eihomogenaten beschreibt. Die unterschiedlichen Analoga wurden durch Verwendung von der ADP-Ribosylcyclase synthetisiert. Dieses Enzym katalysiert bei einem sauren pH-Wert vorwiegend den Austausch der Nicotinamidgruppe vom NADP **4**, mit der Nicotinsäure, wobei NAADP **3** gebildet wird.<sup>[42]</sup> Für die Herstellung der unterschiedlichen NAADP-Analoga katalysiert die ADP-Ribosylcyclase den Austausch der Nikotinamidgruppe unterschiedlich synthetisierter

NADP-Derivate mit verschiedenen Derivaten der Nicotinsäure.<sup>[42,43]</sup> Auch bei später durchgeführten Arbeiten von BILLINGTON *et al.* und TRABBIC *et al.* wurde die Basenaustauschreaktion als Grundlage zur Synthese von neuen unterschiedlichen NAADP-Derivaten genutzt, die im Anschluss in diesen Arbeiten auch auf ihre Struktur-Aktivitätsbeziehung hin untersucht wurden.<sup>[43,44,45]</sup>

Einige verschiedene NAADP-Derivate sind in Abbildung 4.3 dargestellt. Dazu gehören Modifikationen des Pyridinrings (Abb. 4.3, grün), des Adenosins (Abb. 4.3, blau) und der 2'-Phosphatgruppe (Abb. 4.3, lila).<sup>[42,43,44,45]</sup>



**Abb. 4.3:** Struktur-Aktivitätsbeziehungen zwischen den unterschiedlichen NAADP-Derivaten und deren  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Aktivitäten. Dargestellt ist die Struktur des nativen NAADPs **3** (Mitte) und die Strukturen der verschiedenen modifizierten Analoga. Der  $\text{EC}_{50}$ -Wert für die durch NAADP **3** und dessen Derivate induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung wurde fluorimetrisch an Seeigel-Eihomogenaten gemessen. Die  $\text{IC}_{50}$ -Werte (markiert mit einem Sternchen), wurden für die Ligandenkonkurrenzbindung zwischen dem  $[^{32}\text{P}]\text{NAADP}$  und dem nativen NAADP **3** sowie zwischen dem  $[^{32}\text{P}]\text{NAADP}$  und den NAADP-Derivaten ermittelt.<sup>[42,43,44,45,46,47,48]</sup>

Es hat sich herausgestellt, dass es mindestens drei maßgebliche strukturelle Merkmale gibt, die für die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Wirkung dieser Verbindung relevant sind. Das erste strukturelle Merkmal ist, dass die 3-Position des Pyridinrings (Abb. 4.3, grün) unter physiologischen Bedingungen negativ geladen sein muss.<sup>[42,44]</sup> Wird diese Ladung eliminiert oder auf die 4-Position im Ring verschoben (Abb. 4.3, Verbindung **7**), so führt dies zur vollständigen Inaktivierung des Moleküls.<sup>[42]</sup> Das NADP **6** sowie das Boronsäure-Derivat **9** sind bei physiologischem pH-Wert nicht geladen und beide Derivate lösen daher keine rezeptorvermittelte Reaktion aus.<sup>[43,44]</sup> Es ist hervorzuheben, dass das NAADP bindende

Enzym eine große Toleranz für die negativ geladene Gruppe aufweist.<sup>[43]</sup> Diese Toleranz scheint sich jedoch selektiv auf monovalente Anionen zu beziehen, was möglicherweise auf eine sterische Hinderung an der Bindestelle durch mehrere geladene Gruppen zurückzuführen ist.<sup>[43]</sup> Dieses Phänomen wird deutlich, wenn die Bindungsaffinität von Verbindung **13** mit der des Phosphonat-Derivats **12** verglichen wird. Wird die Carbonsäure durch ein Phosphonat ausgetauscht, führt dies zu einer erheblichen Minimierung der Bindungsaffinität. Die Verbindung **13** hingegen weist eine 1000-fach höhere Bindungsaffinität als das Phosphonat **12** auf.<sup>[43,44]</sup> Jedoch zeigen die untersuchten Derivate eine Abnahme der Wirksamkeit mit zunehmender Masse dieser geladenen Gruppe. Das zweite wichtige strukturelle Merkmal ist die Aminogruppe an der 6-Position des Adenosins (Abb. 4.3, blau). Wird das NAADP Molekül an dieser Stelle modifiziert verringert sich die Ca<sup>2+</sup>-freisetzende Wirkung im großen Ausmaß. Wird zum Beispiel das Adenosin gegen Inosin **14** ausgetauscht reduziert dies die Wirksamkeit dieses Derivats **14** um das 1000-fache.<sup>[42,44]</sup> Eine strukturelle Veränderung an der 8-Position des Adenins hatte nur einen geringen negativen Effekt auf die Aktivität der Derivate **15** und **16**.<sup>[45]</sup> Die dritte maßgebliche Strukturkomponente des NAADPs **3** ist die 2'-Phosphatgruppe (Abb. 4.3, lila). Das Molekül behält seine Ca<sup>2+</sup>-freisetzende Wirkung, unter der Voraussetzung, dass sich eine Phosphatgruppe an der 3'- oder 2'-Position der Ribose befindet oder cyclisch mit beiden Positionen verknüpft ist (Abb. 4.3, Verbindung **19** und Verbindung **21**). Es zeigt sich zwar eine Abnahme der Ca<sup>2+</sup>-freisetzenden Wirkung, aber das Molekül wird nicht inaktiv. Wenn das Phosphat jedoch entfernt (Abb. 4.3, Verbindung **18**) oder maskiert (Abb. 4.3, Verbindung **20**) wird, dann ist das Molekül inaktiv.<sup>[42]</sup>

Es wurden weitere Untersuchungen zur Struktur-Aktivitätsbeziehung neuartiger NAADP-Derivate in Arbeiten von *Jain et al.* durchgeführt. Auch hier erfolgte die Synthese dieser Derivate über die Basenaustauschreaktion und die Derivate wurden in Seeigel-Eihomogenaten getestet. Es erfolgten Substitutionen an der 4- und 5-Position des Nicotinsäurerings. Erfolgt der Austausch an der 4-Position (Abb. 4.3, Verbindung **5**) der Nicotinsäure, führt dies zu einem Verlust der Bindungsaffinität zum Enzym. Im Gegensatz dazu konnte beobachtet werden, dass die Substitution der 5-Position keine große Minderung der Bindungsaffinität zur Folge hatte. Das 5'-Amino-Derivat **8** zeigte eine ähnliche Ca<sup>2+</sup>-freisetzende Wirkung wie das NAADP **3**. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass eine zweite negative Ladung an der Nicotinsäure (Abb. 4.3, Verbindung **11**) von der Bindungstasche nicht toleriert wird.<sup>[44,47]</sup>

#### 4.2.2 NAADP im Kontext von Immunität und Entzündung

Das Immunsystem ist ein bemerkenswertes Abwehrsystem, das den menschlichen Organismus vor Viren, Bakterien oder krankhaft veränderten Zellen schützt. Die Abwehrmechanismen lassen sich in angeborene (unspezifische) und adaptierte (spezifische) Immunreaktionen unterteilen.<sup>[2]</sup> Die angeborene Immunreaktion setzt direkt nach der Infektion ein und reagiert immer auf dieselbe Weise.<sup>[4]</sup> Im Gegensatz dazu passt sich das adaptierte Immunsystem der Natur des Erregers an, indem es auf die spezifische Struktur reagiert. Es setzt sich aus der humoralen Immunantwort (B-Zellen) und der zellulären Immunantwort (T-Zellen) zusammen.<sup>[2,22,49,50]</sup>

Die T-Zellen werden durch die Erkennung eines spezifischen Antigens auf antigenpräsentierenden Zellen (dendritische Zellen, Makrophagen oder B-Lymphozyten) über ihren T-Zellrezeptor aktiviert. Die Haupthistokompatibilitätskomplexe (*major histocompatibility complex*, MHC) sind eine Gruppe von in der Plasmamembran eingebetteten Genen, die Peptide aus den antigenpräsentierenden Zellen binden. T-Zellen prüfen mit ihrem sich an der Oberfläche befindenden T-Zell-Rezeptoren, die gebundenen Peptide an den MHCs, um die Zellen zu finden, die unbekannte Struktur motive auf der Oberfläche tragen und auf diese mit einer Immunantwort zu reagieren.<sup>[2]</sup> Der T-Zell-Rezeptor ist an ein Transmembranprotein (CD3) gekoppelt, welches an der Übertragung des Aktivierungssignals in die Zelle beteiligt ist. Dieser Schritt initiiert die Bildung von sekundären Botenstoffen, die im Anschluss die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus intrazellulären Speichern auslöst. Bereits beim Kontakt der T-Zelle mit der antigenpräsentierenden Zelle kommt es zum Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in der T-Zelle, das bedeutet, dass für die Aktivierung der T-Zellen ein intakter,  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzender Mechanismus essenziell ist.<sup>[22,51,52]</sup>

Die Aktivierung von T-Zellen durch die TCR/CD3-Stimulation ist ein wesentlicher Bestandteil der adaptiven Immunantwort.<sup>[33,53]</sup> BERG *et al.* konnten durch die Mikroinjektion einer selbstaktivierenden NAADP<sup>+</sup>-Konzentration in humanen Jurkat T-Lymphozyten zeigen, dass sich die anschließende Stimulation des  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalwegs über den T-Zell-Rezeptor vollständig aufhob. Das deutet darauf hin, dass ein funktionierendes NAADP/ $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzungssystem für die  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalübertragung durch T-Lymphozyten essenziell ist.<sup>[8]</sup> Die NAADP-Signalübertragung kann als ein zentraler Prozess angesehen werden, der für die Aktivierung von T-Zellen notwendig ist.<sup>[33]</sup>

Autoreaktive T-Zellen spielen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen wie z.B. rheumatoider Arthritis, Multipler Sklerose oder Diabetes mellitus Typ I.<sup>[54]</sup> Dysregulierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Mechanismen wurden mit einer Reihe von pathophysiologischen Prozessen bei Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht. Der Zusammenhang zwischen dysregulierter  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalübertragung in T-Zellen und der

Pathogenese von Autoimmunerkrankungen legt nahe, dass eine Störung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalübertragung ein nützlicher Ansatz zur Behandlung von Autoimmunerkrankungen sein könnte.<sup>[52]</sup> Neben Autoimmunerkrankungen zählen auch Erkrankungen wie Arrhythmien<sup>[55]</sup>, maligne Hyperthermie<sup>[56]</sup>, hypokaliämische Paralyse<sup>[5]</sup> sowie Mukopolidose IV<sup>[57]</sup> zu den möglichen Krankheitsbildern, die aus einer gestörten Calciumhomöostase resultieren könnten.

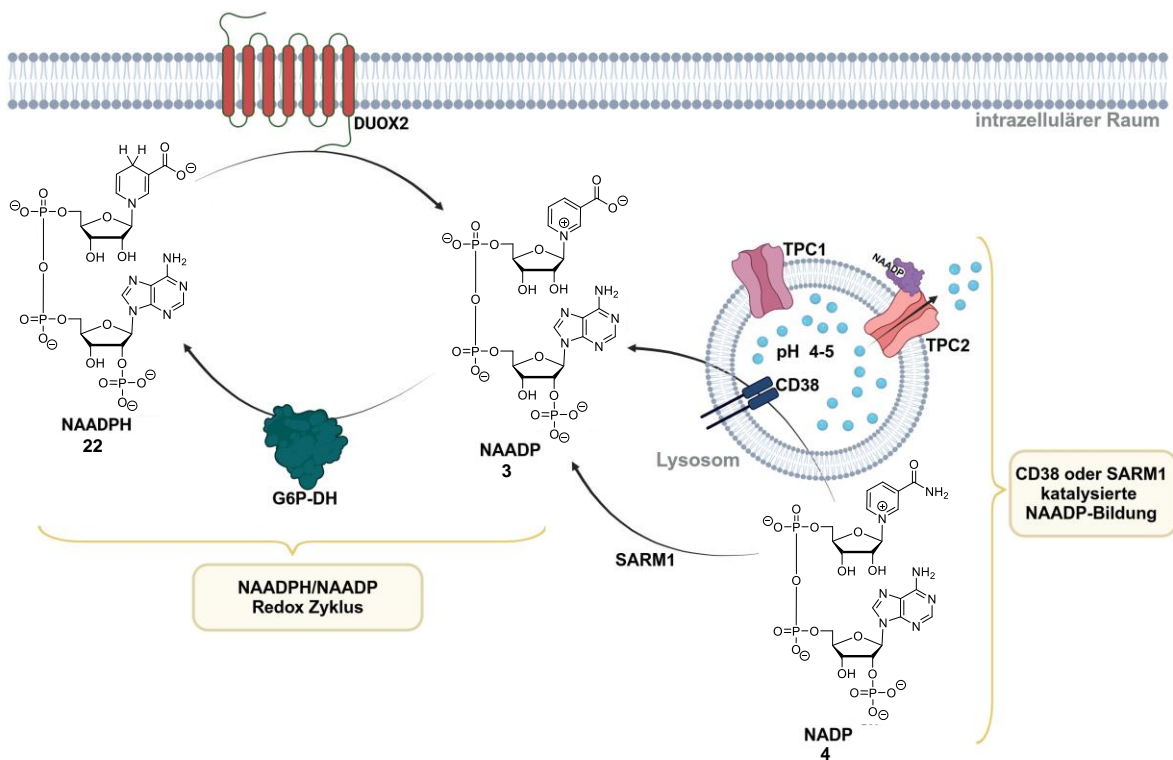
Im zentralen Nervensystem (ZNS) hat sich das NAADP als Regulator der Autoimmunität erwiesen. Der NAADP-Antagonist BZ194 hemmt die Migration von T-Zellen zur Blut-Hirn-Schranke, die Reaktivierung von T-Zellen im zentralen Nervensystem und die Proliferation, die durch Antigene ausgelöst wird. Autoimmunerkrankungen werden durch T-Zellen hervorgerufen, die gegen spezifische Autoantigene reagieren, die in den angegriffenen Organen präsentiert werden.<sup>[33]</sup> In Arbeiten von CORDIGLIERI *et al.* wurde eine neuartige Strategie getestet, um die Aktivierung von autoaggressiven Effektor-T-Zellen zu stören.<sup>[58]</sup> Es wurde für diese Zwecke der NAADP-Antagonist BZ194 verwendet. Dieser Antagonist wurde im Rattenmodell der Multiplen Sklerose (*experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis*, EAE) angewendet und der klinische Verlauf der EAE bei diesen Tieren war infolgedessen deutlich reduziert.<sup>[33,58]</sup>

### 4.2.3 NAADP Synthese und Metabolismus *in vitro*

Sowohl für den Anabolismus als auch für den Katabolismus sind hocheffiziente Enzymsysteme verantwortlich, denn die sekundären Botenstoffe müssen schnell und zuverlässig gebildet und wieder abgebaut werden, um ihre physiologische Wirkung zu entfalten. Bei gezielter extrazellulärer Stimulation konnte in verschiedenen Zellen eine schnelle Produktion von NAADP **3** beobachtet werden. Als erster biosynthetischer Weg wurde die enzymatisch katalysierte Bildung von NAADP **3** aus NADP **4** aufgezeigt.<sup>[4,59]</sup> Die Umwandlung von NADP **4** zu NAADP **3** wird durch die multifunktionelle NAD-Glykohydase/ADP-Ribosylcyclase CD38 katalysiert.<sup>[27,59]</sup> Es wurde angenommen, dass eine durch das CD38 katalysierte Basenaustauschreaktion des Nicotinamids durch die Nicotinsäure erfolgte und so das NAADP **3** erhalten wurde. Dieser Prozess findet allerdings unter für das Cytosol unphysiologischen Bedingungen statt, weil die Reaktion einen Überschuss an Nicotinsäure und einen pH-Wert von 4-5 voraussetzt.<sup>[33]</sup> Problematisch ist, dass im Cytosol ein neutraler pH-Wert vorliegt, wodurch der zelluläre Raum für eine effiziente NAADP-Erzeugung auf das Lumen der sauren lysosomalen Kompartimente beschränkt wäre.<sup>[34,60]</sup> Die Synthese von NAADP **3** innerhalb des lysosomalen Lumens erfordert jedoch den Transport von NADP **4** und der Nicotinsäure in das Lumen der Lysosomen und von NAADP **3** aus dem Lumen zurück ins Cytosol.<sup>[33]</sup> Es konnte durch

Experimente mit CD38 Knockout-Mäusen festgestellt werden, dass der NAADP-Spiegel unabhängig von der CD38 katalysierten Basenaustauschreaktion ist.<sup>[61]</sup> Auch in intakten primären CD38<sup>-/-</sup>-T-Zellen unterschied sich die Anzahl der Ca<sup>2+</sup>-Mikrodomänen direkt nach der Stimulation von TCR/CD3 und CD38 nicht von der Wildtyp-Kontrolle.<sup>[62]</sup> Es wurden jedoch bereits alternative Enzyme für die NAADP-Synthese beschrieben, dabei handelt es sich um das von DIANTONIO *et al.* beschriebene *sterile alpha and TIR motif-containing 1* (SARM1) und die von GU *et al.* publizierte duale NAADPH-Oxidase (DUOX2).<sup>[62,63]</sup>

Die CD38- und SARM1-katalysierte NAADP-Bildung sowie der NAADPH/NAADP-Redox-Zyklus, welcher durch DUOX2 katalysiert wird, sind in Abbildung 4.4 dargestellt.



**Abb. 4.4:** NAADP 3 Metabolismus *in vitro*. Die Bildung von NAADP 3 erfolgt über zwei vorgeschlagene Wege. Die Oxidation von NAADPH 22 wird durch die duale NAADPH-Oxidase katalysiert. Die Reduktion des NAADPs 3 erfolgt durch die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (links, NAADPH/NAADP Redox-Zyklus) und die Synthese von NAADP 3 über die Basenaustauschreaktion aus NADP 4. Diese Reaktionen werden durch CD38 und SARM1 katalysiert. (rechts, CD38 oder SARM1 katalysierte NAADP-Bildung). Diese Abbildung wurde mit BioRender.com/z8o096 erstellt.

SARM1 ist ein autoinhibitorisches NAD-verbrauchendes Enzym, das aus mehreren Domänen besteht. SARM1 wurde mit der Axondegeneration bei einer Reihe von degenerativen neuronalen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Die TIR-Domäne von SARM1 hat gleiche Eigenschaften wie das Enzym CD38 obwohl sie keinerlei Sequenz- und Strukturähnlichkeiten aufweisen.<sup>[64,65]</sup> SARM1 katalysiert wie CD38 nicht nur die Hydrolyse von NAD, sondern auch dessen Cyclisierung zur cADPR 2, sowie eine Basenaustauschreaktion unter Verwendung von NADP 4 und Nicotinsäure als Substrat zur Bildung

von NAADP **3**. Es wurde von ZHAO *et al.* beschrieben, dass SARM1 ausschließlich bei sauren pH-Werten unter 5 aktiviert wird.<sup>[64]</sup> Dieser saure Aktivierungsmechanismus des SARM1 könnte physiologische Relevanz haben, da das lysosomale Lumen einen sauren pH-Wert aufweist. SARM1 könnte beispielsweise durch Prozesse wie Autophagie oder Mitophagie in das Lumen der Lysosomen aufgenommen, als Signalenzym aktiviert werden und dann zur Synthese des NAADPs **3** beitragen.<sup>[64]</sup> Die Lokalisierung in den Lysosomen ist jedoch zu diesem Zeitpunkt noch nicht genau bekannt und die Beteiligung von SARM1 an der Synthese des NAADPs **3** muss noch eingehender untersucht werden.<sup>[34,65]</sup>

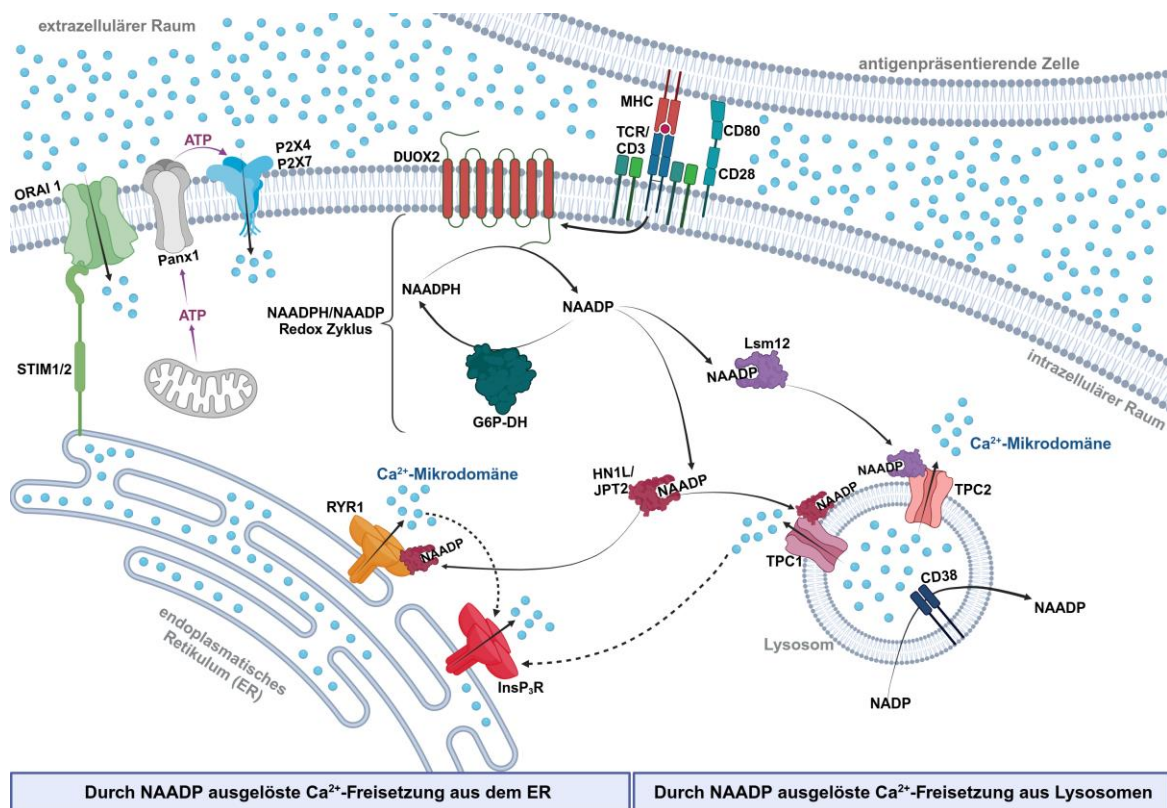
Von GU *et al.* wurde ein weiterer Weg für die Bildung von NAADP **3** beschrieben.<sup>[62]</sup> Die Bildung der Ca<sup>2+</sup>-Mikrodomänen wird während der T-Zell-Aktivierung, nach der TCR/CD3-Stimulation, durch die Synthese von NAADP **3** aus seiner reduzierten Form NAADPH **22** initiiert. Der Abbau von NAADP **3** zu NAADPH **22** wird durch die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) katalysiert. GU *et al.* identifizierten die NADPH-Oxidasen NOX und DUOX als NAADP-bildende Enzyme, die das NAADPH **22** unter physiologischen Bedingungen *in vitro* in NAADP **3** überführen.<sup>[62]</sup>

Es wurden Ca<sup>2+</sup>-Mikrodomänen, die nach der TCR/CD3-Stimulation in T-Zellen der Ratte hervorgerufen wurden mit Gen-Knockouts von entweder DUOX1 oder DUOX2 aufgezeichnet. Bei den T-Zellen mit Deletion von DUOX1 gab es keine signifikanten Unterschiede, jedoch konnte durch den Knockout von DUOX2 in T-Zellen eine signifikant reduzierte Anzahl der Ca<sup>2+</sup>-Mikrodomänen in den ersten 15 Sekunden nach TCR/CD3-Stimulation beobachtet werden. Dies deutet darauf hin, dass DUOX2 NAADP **3** innerhalb von Sekunden nach der TCR/CD3-Stimulation synthetisiert. DUOX1 hingegen kann dies nicht leisten, jedoch übernimmt DUOX1 mit der Zeit die Rolle von DUOX2 und ab ca. 22 Sekunden ist fast kein Unterschied mehr hinsichtlich der Anzahl der Ca<sup>2+</sup>-Mikrodomänen festzustellen.<sup>[62]</sup>

Es wurde von GU *et al.* ein Redoxzyklus vorgeschlagen, in dem der sekundäre Botenstoff NAADP **3** nach TCR/CD3-Stimulation schnell durch DUOX2 synthetisiert wird, während inaktives NAADPH **22** durch G6P-DH produziert wird und so, niedriges cytosolisches NAADP **3** wieder in NAADPH **22** umwandelt.<sup>[62]</sup>

#### 4.2.4 NAADP induzierte Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung bei der Aktivierung von T-Zellen

Im Anschluss an die TCR/CD3-Stimulation wird der Ca<sup>2+</sup>-mobilisierende Botenstoff NAADP **3** innerhalb von 10 s gebildet (die Kinetik der *in vivo* Produktion des NAADPs nach Stimulation von T-Lymphozyten über den TCR/CD3-Komplex (OKT3) wurde bereits in Abschnitt 4.1 erläutert).<sup>[25]</sup> Die schnelle Bildung des NAADPs **3** wird wahrscheinlich durch das Enzym DUOX2 katalysiert. Es wurde von Gu *et al.* postuliert, dass DUOX2 in den ersten Sekunden der T-Zell-Aktivierung NAADP **3** bildet (Abschnitt 4.2.3).<sup>[62]</sup> Ein vorgeschlagener Weg für die NAADP **3** induzierte Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung nach der T-Zell-Aktivierung ist in Abbildung 4.5 dargestellt.<sup>[33,34,65]</sup>



**Abb. 4.5:** NAADP-Stoffwechsel und die Ca<sup>2+</sup>-Mobilisierung ausgelöst durch den sekundären Botenstoff NAADP **3** nach der T-Zell-Aktivierung. Diese Abbildung wurde mit BioRender.com/z8o096 erstellt.

Es konnte unter Verwendung einer NAADP-Photoaffinitätsmarkierung in unterschiedlichen Säugetierzellen eine spezifische Markierung kleiner cytosolischer Proteine beobachtet werden. Basierend auf dieser Entdeckung veröffentlichten GUSE *et al.* eine Hypothese, bei der er annimmt, dass eine direkte Bindung an die NAADP-spezifischen Rezeptoren (TPC oder RYR1) nicht stattfindet. Stattdessen bindet NAADP **3** an spezifische Bindeproteine, die wiederum an verschiedenen Ionenkanälen binden können.<sup>[27,66,67]</sup> Es konnten zwei unterschiedliche Bindeproteine identifiziert werden. Das erste Bindeprotein ist das *hematological and neurological expressed 1-like protein (HN1L)/ jupiter microtubule*

*associated homolog 2* (JPT2).<sup>[68,69]</sup> Kurz nach der Identifizierung von HN1L/JPT2 wurde das *Sm-like protein* Lsm12 als weiteres NAADP-Rezeptor-Bindeprotein entdeckt.<sup>[70]</sup> Das nach der T-Zell-Aktivierung gebildete NAADP **3** bindet an HN1L/JPT2, dieses Bindeprotein ist zuvor im Cytosol lokalisiert oder bereits an RYR1 gebunden. Durch die Wechselwirkung zwischen dem RYR1 und dem NAADP-gebundenen Protein wird RYR1 aktiviert und es erfolgt eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus dem ER. Die dadurch erfolgte Bildung von lokalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Mikrodomänen wird durch weitere Zellprozesse verstärkt (siehe Abbildung 4.5). Die anfängliche Stimulation der T-Lymphozyten über den TCR/CD3-Komplex löst die mitochondriale ATP-Produktion und die ATP-Freisetzung über Panex1-Kanäle aus. Das freigesetzte ATP aktiviert die PTX4- und PTX7-Rezeptoren, was einen  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom auslöst.<sup>[71,72]</sup> ATP-gesteuerte P2X4- und P2X7-Rezeptoren und Cluster von STIMs und ORAI1 tragen zur Bildung weiterer  $\text{Ca}^{2+}$ -Mikrodomänen bei.<sup>[33,34,62,71,72]</sup> Die Aktivierung von STIM1 und STIM2, durch aus dem ER freigesetzte Calciumionen, induziert den *store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry* (SOCE) durch die ORAI1-Kanäle, was zu einer anhaltenden globalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung führt.<sup>[71,73]</sup>

Es konnte beobachtet werden, dass das Bindeprotein HN1L/JPT2 nicht nur an RYR1 sondern auch an TPC1 binden kann.<sup>[66]</sup> Das zweite NAADP-Rezeptor-Bindeprotein, das Lsm12 bindet an TPC2.<sup>[69]</sup> Dies deutet darauf hin, dass die Freisetzung von  $\text{Ca}^{2+}$ -Mikrodomänen auch aus einem weiteren Calciumionenspeicher, den sauren Lysosomen erfolgen kann.<sup>[34]</sup> Kleine, lokal begrenzte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzungen, die durch die Aktivierung des RYR1 und der TPCs freigesetzt werden, können im Anschluss eine größere  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus dem ER auslösen. Bei diesem Mechanismus, der als  $\text{Ca}^{2+}$ -induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung (*calcium-induced calcium release*, CICR) bezeichnet wird, führt die durch NAADP **3** induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung zu einer Sensibilisierung der  $\text{InsP}_3$ -Rezeptoren (Abbildung 4.5, gestrichelter Pfeil).<sup>[26]</sup>

### 4.3 Das Maskenkonzept zur Steigerung der Lipophilie

Die bekannten  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Botenstoffe, wie  $\text{IP}_3$  **1**, cADPR **2** und NAADP **3** sind bei physiologischem pH-Wert geladen und aus diesem Grund nicht membranpermeabel. Um die Wirkung dieser Botenstoffe in intakten Zellen zu untersuchen, wurden bisher Methoden, wie Elektroporation und Mikroinjektion genutzt oder es wurden Infusionen über eine *patch-clamp*-Pipette durchgeführt.<sup>[9,10,11]</sup> Die hier angeführten Methoden sind der neueste Stand der Technik, jedoch aufwendig, technisch sehr anspruchsvoll und potenziell invasiv. Diese Methoden können bereits durch die bloße Anwendung am Zellsystem Stress auslösen, was die Untersuchungen zur NAADP-Signalübertragung bereits beeinträchtigen kann. Ein möglicher Risikofaktor bei der Mikroinjektion ist z.B., dass das injizierte Volumen

durch Spuren von extrazellulärem Puffer mit hoher  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration verunreinigt werden kann.<sup>[74]</sup> Bei der Elektroporation verursacht ein kurzer Impuls einen reversiblen elektrischen Zusammenbruch, welcher mit einer enormen Zunahme des molekularen Transports über die Membran einhergeht. Dieser Prozess kann Zellstress zur Folge haben, welcher wahrscheinlich durch den unkontrollierten chemischen Einfluss von extrazellulären Molekülen, dem Entweichen von intrazellulären Substanzen und dem daraus folgenden chemischen Ungleichgewicht herbeigeführt wird.<sup>[75]</sup>

Ähnlich wie beim bekannten *Prodrug*-Konzept, soll das Maskieren des geladenen NAADPs **3** eine Membranpermeabilität dieser Verbindung gewährleisten, um mit einer möglichst nicht invasiven Applikationsmethode für die Untersuchung der NAADP-Signalübertragung in Zellen zu arbeiten.<sup>[13]</sup>

Eine Verbindung mit vorwiegend polaren Eigenschaften, wie das NAADP **3**, kann durch passive Diffusion nicht die Zellmembran passieren. Mit Hilfe einer lipophilen Maske können hydrophile oder geladene Gruppen modifiziert werden, sodass die modifizierte Verbindung durch die Zellmembran diffundieren kann. Nachdem die maskierte Verbindung die Zellmembran passiert hat, kann die lipophile Maske durch chemische oder enzymatische Spaltungen entfernt und das NAADP **3** somit freigesetzt werden.<sup>[12,13]</sup> Gerade im Fall der Nucleotidanaloga erschweren die negativ geladenen Phosphatgruppen die passive Diffusion durch die Zellmembran. Bei der Entwicklung von Nucleotid-*Prodrugs* kann durch die Maskierung der negativen Ladungen des Moleküls eine ausreichende Membranpermeabilität erlangt werden.<sup>[76,77]</sup>

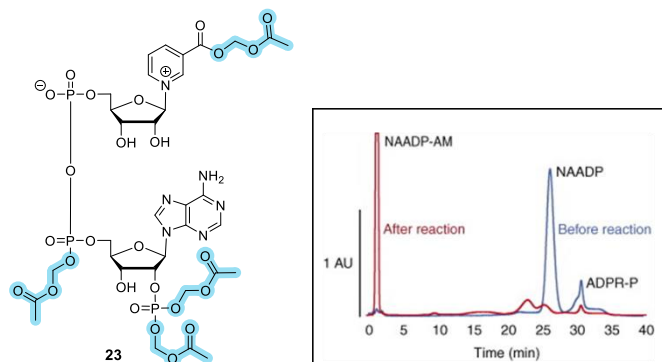
#### 4.3.1 Maskierungskonzept zur Steigerung der Lipophilie vom NAADP

Die Synthese des bioreversibel maskierten NAADP-AMs **23** erfolgte, wie von PARKESH *et al.* publiziert, ausgehend vom NAADP **3**.<sup>[78]</sup> Die negativen Gruppen des Moleküls wurden mit Acetoxymethylbromid in Acetonitril unter Verwendung von *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) als Base verestert.<sup>[78,79]</sup> Offenbar lieferte die Synthese eine Veresterung mit vier AM-Schutzgruppen, jedoch erfolgte die Charakterisierung wegen der Labilität dieser Verbindung nur unvollständig.<sup>[78]</sup> Aufgrund der in der Arbeit beschriebenen Stabilitätsprobleme erfolgte keine massenspektrometrische Untersuchung. Das isolierte Produktgemisch wurde NMR-spektroskopisch untersucht. Jedoch konnte mit Hilfe des publizierten <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums und der dort gezeigten Signale keine Deutung der Anzahl der AM-Schutzgruppen sowie deren genauen Positionen erfolgen.<sup>[78]</sup>

Neben der Maskierung der 2'-Phosphatgruppe kann im Fall vom NAADP **3** zusätzlich die Carboxy-Funktion mit einer Maske versehen werden. Die Maskierung des

Pyrophosphatrückgrats ist kritisch zu betrachten, weil dies die Anhydride erheblich destabilisiert.<sup>[14]</sup>

Die von PARKESH *et al.* publizierte Struktur ist in Abbildung 4.6, links dargestellt.<sup>[78,79]</sup>



**Abb. 4.6:** Struktur vom bisher publizierten AM-maskierten NAADP **23** (links). Verlauf der Reaktion und die Trennung des NAADP-AM **23** mittels Anionenaustausch-HPLC (rechts). Das HPLC-Chromatogramm der Reaktionsverfolgung bei der Synthese des AM-geschützten NAADPs **23** zeigt das eingesetzte NAADP **3** vor (blau) und das NAADP-AM **23** (rot) nach einer Stunde Reaktionszeit. Eine geringe Menge der Kontamination durch ADPR-P ist ebenfalls markiert.<sup>[78]</sup>

Die Autoren postulierten an Hand des HPLC-Chromatogramms der Reaktionsverfolgung (Abb. 4.6, rechts), dass durch das Blockieren der negativen Ladungen des nativen NAADPs **3** durch die verwendeten AM-Schutzgruppen, die maskierte Verbindung **23** eine sehr geringe Retentionszeit aufweist.<sup>[78]</sup>

In Arbeiten von RUTHENBECK erfolgte der Versuch, das NAADP-AM **23**, wie in der Referenz<sup>[78,79]</sup> beschrieben, zu reproduzieren.<sup>[14]</sup> Dies führte jedoch zu einem komplexen Gemisch von Verbindungen sowie zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen, bedingt durch die nicht selektiven Reaktionsstellen am NAADP-Molekül und die geringe Stabilität der AM-Ester.<sup>[14,80,81]</sup>

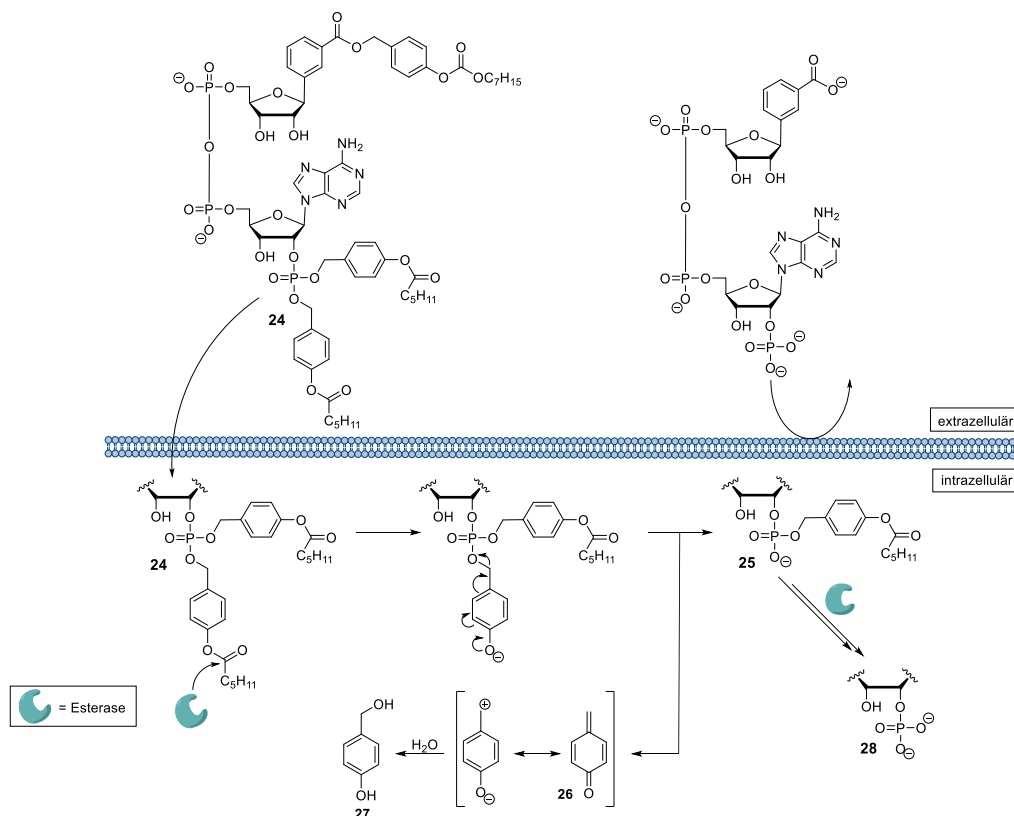
Aufgrund dieser Ergebnisse verfolgten RUTHENBECK und DEKIERT im Anschluss einen neuen Syntheseansatz, um ein bioreversibles maskiertes NAADP-Derivat zu synthetisieren.<sup>[14,15]</sup> Im Gegensatz zu PARKESH *et al.* wird bei diesen Synthesen die Strategie verfolgt, die einzelnen Grundbausteine gezielt mit Acyloxybenzyl- (AB-) und Alkoxy-carbonyloxybenzyl- (ACB-) Masken zu maskieren, um aus diesen maskierten Synthesebausteinen im Anschluss die unterschiedlichen NAADP-Analoga darzustellen. In Arbeiten von DEKIERT ist es schließlich gelungen, totalsynthetisch ein maskiertes NAADP-Derivat **24** (Abb. 4.7) darzustellen. Jedoch handelt es sich bei diesem Zielmolekül um ein maskiertes und stabilisiertes Derivat des nativen NAADPs **3**, denn die Maskierung der Carboxy-Funktion der Nicotinsäure bewirkt eine erhöhte Labilität der *N*-glykosidischen Bindung. Aus diesem Grund wurde statt des *N*-Glykosids ein *C*-Nucleosid synthetisiert.<sup>[15]</sup> Es konnte bereits durch biologische Untersuchungen an Jurkat T-Zellen angenommen werden, dass

das maskierte NAADP-Derivat **24** (Abb. 4.7) passiv durch die Zellmembran diffundiert und nach erfolgter Demaskierung intrazellulär eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung induziert, da in den ersten Zelltests an Jurkat-T-Zellen nach Zugabe des NAADP-Derivats eine intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung innerhalb von wenigen Sekunden beobachtet werden konnte.<sup>[15]</sup> Das bei dieser Verbindung **24** angewendete Maskenkonzept wurde erstmals 1991 von THOMSON *et al.* als bioreversibles Maskierungskonzept an Methylphosphonaten erprobt.<sup>[82]</sup> Das Konzept wurde 1993 auf Nucleosidmonophosphate übertragen.<sup>[83]</sup> Publiziert wurde das sogenannte Bis(Acyloxy-Benzyl)-Konzept (BAB-Konzept) erstmals am Beispiel vom 5'-Monophosphat des Azidothymidin (AZT).<sup>[83]</sup>

Durch die Arbeiten von JESSEN, WEINSCHENK, SCHULZ und GOLLNEST, im Arbeitskreis um MEIER konnte das BAB-Konzept auf Nucleosiddiphosphate (DiPPro-Konzept) und Nucleosid-triphosphate (TriPPPPro-Konzept) erweitert werden.<sup>[76,84,85,86]</sup>

Die AB-Masken sind aus einer Hydroxybenzylalkohol-Einheit, die über eine Esterfunktion mit unterschiedlichen Alkyl-Resten verknüpft ist, zusammengesetzt. Über die Alkylreste kann die Lipophilie der Maske beeinflusst werden. Es ist durch die Verwendung von langen Alkylketten möglich, Nucleosidtriphosphate in ihrer Lipophilie so zu steigern, sodass diese maskierten Triphosphate passiv durch die Zellmembran diffundieren konnten.<sup>[76]</sup> Die aromatische Funktion dient als *Spacer*, weshalb die enzymatische Spaltung nicht direkt am Wirkstoff erfolgt. Die Spacerfunktion wurde eingeführt, damit die Geschwindigkeit der Entfernung des zweiten Esters im Gegensatz zum ersten nicht deutlich geringer ausfällt. Im Vergleich zu direkt acylierten Phosphaten konnte der Vorteil dieser Spacereinheiten beim Abspalten der zweiten Maskeneinheit demonstriert werden. Die Abspaltung der AB-Maske vom monomaskierten Intermediat erfolgte wesentlich schneller als bei direkt acylierten Phosphaten. Das kann auf die Nähe des anionischen Zentrums zur Acylgruppe, bei den direkt acylierten Phosphaten zurückgeführt werden, da die anionische Ladung die Bindung des Substrats an die aktive Stelle der Esterase erschweren kann.<sup>[82,83]</sup>

Das Besondere an dem BAB-Konzept ist, dass der Wirkstoff in der Zelle durch die enzymatisch induzierte Spaltung freigesetzt werden kann.<sup>[83]</sup> Die Spaltungskaskade des BAB-Konzepts ist am Beispiel des membranpermeablen maskierten NAADP-Derivats **24** in Abbildung 4.7 dargestellt.



**Abb. 4.7:** Darstellung der enzymatischen Spaltungskaskade des BAB-Konzepts und die daraus resultierende Demaskierung des 2'-Phosphats des maskierten NAADP-Derivats **34**.<sup>[83,84]</sup>

Das BAB-Konzept beruht auf einer durch Esterasen ausgelösten Hydrolyse des phenolischen Acylesters, was eine Umpolung an der benzylichen Gruppe zur Folge hat. Der Akzeptorsubstituent wird durch die enzymatische Spaltung zu einem Donorsubstituenten, was eine spontane 1,6-Eliminierung zur Folge hat. Das monomaskierte 2'-Phosphat **25** wird unter der Bildung des mesomeriestabilisierten *p*-Chinonmethids **26** eliminiert. Das reaktive *p*-Chinonmethid **26** hydrolysiert zum nicht toxischen 4-Hydroxybenzylalkohol **27**. Die Spaltung der zweiten AB-Maske findet in Analogie zur bereits beschriebenen Spaltung der ersten AB-Maske statt, wobei das 2'-Phosphat **28** freigesetzt wird.<sup>[83,85,87]</sup>

#### 4.4 Photolabile Masken

Photolabile Schutzgruppen (*photoremovable protecting groups*, PPG) werden durch Bestrahlung mit Licht abgespalten, wodurch das gewünschte Substrat freigesetzt wird. Zudem ist es durch den Einsatz von PPGs möglich, die Freisetzung von Wirkstoffen räumlich und zeitlich zu steuern.<sup>[88]</sup> Da Licht die Zellmembran durchdringen kann, ist die Freisetzung eines Biomoleküls in einem intrazellulären Kompartiment möglich. Wird die Zelle gleichmäßig mit Licht beleuchtet, führt dies zu einer Freisetzung im gesamten Cytosol. Die Freisetzung der *photocaged* Verbindung kann jedoch auch durch die Fokussierung des

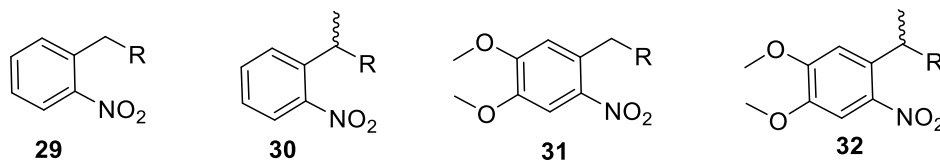
Lichtstrahls auf einen bestimmten Teil der Zelle lokalisiert werden.<sup>[89]</sup> Beispiele für photomaskierte Biomoleküle sind Neurotransmitter<sup>[90]</sup>, Inositol<sup>[91]</sup>, NAADP<sup>[92]</sup>, Nucleotide<sup>[93]</sup>, Peptide<sup>[94]</sup> und Enzyme<sup>[95]</sup>. Alle diese Moleküle wurden durch die kovalente Modifikation ihrer Struktur mit einer photolabilen Schutzgruppe maskiert.<sup>[89]</sup> Für die Anwendung von photospaltbaren Gruppen in biologischen Systemen sollten bei der Wahl der passenden Photogruppe unterschiedliche Kriterien erfüllt werden. Die Kriterien, für eine gute PPG hängt vom Anwendungsgebiet dieser ab. Nicht jede PPG wird und kann alle Anforderungen an eine passende Abgangsgruppe erfüllen. Zum einen sollten die *photocaged* Derivate und deren Spaltprodukte im entsprechenden Medium eine gute Löslichkeit aufweisen. Zum anderen sollten die Derivate eine ausreichende Lipophilie besitzen, um das Zielgewebe erreichen zu können. Die Nebenprodukte, die während der Spaltung der Photogruppen entstehen, müssen biokompatibel sein, sodass sie nicht mit dem System reagieren, was untersucht werden soll. Wird die photospaltbare Gruppe im zellulären Kontext verwendet, sollte ihr Absorptionsmaximum auf jeden Fall über 300 nm, vorzugsweise sogar über 400 nm liegen. Je länger die verwendete Wellenlänge, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Strahlung vom zu untersuchenden biologischen System selbst absorbiert wird und mögliche Schäden am biologischen System durch die eingesetzte Strahlung entstehen. Zu guter Letzt sollte die Photoreaktion mit einer hohen Quantenausbeute bzw. Quanteneffizienz für die Freisetzung erfolgen. Die Quantenausbeute ist das Verhältnis zwischen dem freigesetzten Substrat und der Menge der Photonen bei der Bestrahlungswellenlänge.<sup>[96]</sup>

#### 4.4.1 2-Nitrobenzylphotoschutzgruppen

2-Nitrobenzyl- und 2-Nitrophenyl-Schutzgruppen sowie deren Dimethoxyderivate (Nitroveratryl-Derivate) sind die wohl mit Abstand am weitverbreitetsten photolabilen Schutzgruppen.<sup>[96]</sup> Die Phototautomerisierung der 2-Nitrobenzyl-Derivate unter Abspaltung der unterschiedlichen Abgangsgruppen ist eine Reaktion, die eine Vielzahl an Anwendungsgebieten vorzuweisen hat. Es werden diese photoaktivierbaren Verbindungen in Bereichen der Chemie, der Biologie, der makromolekularen Chemie, der Neurowissenschaften, der Photolithographie sowie bei der Herstellung von DNA-Chips eingesetzt.<sup>[97]</sup> Die Verwendung von 2-Nitrobenzylderivaten als photosensitive Blockierungsreagenzien an Amino- und Carbonylfunktionen von Peptiden wurde von BARLTROP *et al.* 1966 publiziert.<sup>[98]</sup> Im Anschluss wurde von PATCHRONIK *et al.* 1970 erstmals die Verwendung zweier neuartiger Derivate (Nitroveratryloxycarbonyl und 2-Nitrobenzyl-oxycarbonyl) aus der Verbindungsklasse der 2-Nitrobenzyl-Derivate als Schutzgruppe beschrieben.<sup>[99]</sup> Es wurden in dieser Arbeit verschiedene Aminosäurederivate an der

Aminofunktion mit diesen Schutzgruppen, basierend auf dem 2-Nitrobenzyl-Gerüst, blockiert. Diese Schutzgruppen konnten im Anschluss durch die Bestrahlung mit Licht (320 nm) erfolgreich photolytisch gespalten werden.<sup>[99]</sup>

In Abbildung 4.8 sind die Strukturen unterschiedlicher photolabiler Schutzgruppen dargestellt, die sich von der 2-Nitrobenzylgruppe ableiten lassen.<sup>[96,99,100]</sup>

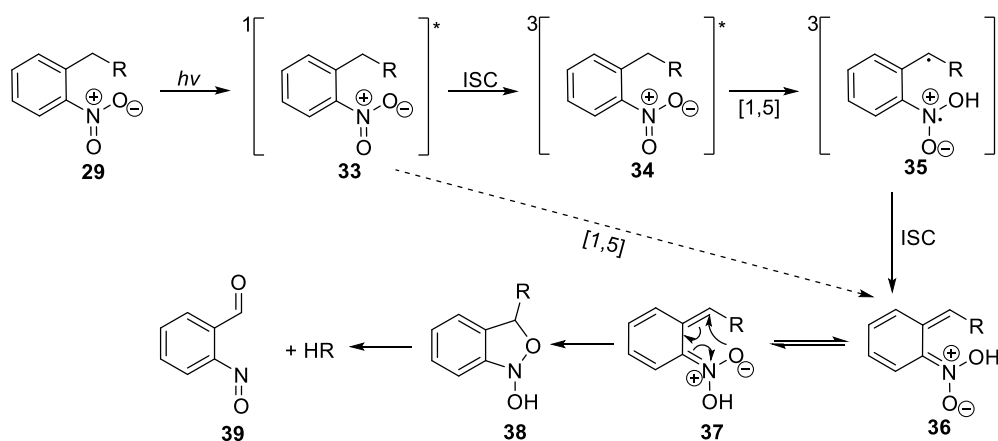


**Abb. 4.8:** Strukturen der von der photolabilen 2-Nitrobenzyl-Gruppe **29** (2-NB-Gruppe) abgeleiteten Schutzgruppen: Nitrophenylethyl-Gruppe **30** (NPE-Gruppe), Nitroveratryl-Gruppe **31** (NV-Gruppe) und der Methyl-Nitroveratryl-Gruppe **32** (MeNV-Gruppe). R ist eine Abgangsgruppe (z.B. Phosphat, Tosylat oder Carboxylat).

Die einfachste der in Abbildung 4.8 abgebildeten Schutzgruppen ist die namensgebende 2-Nitrobenzyl-Gruppe (2-NB-Gruppe) **29**. Diese Gruppe wurde ursprünglich für die Maskierung von Carboxylaten beschrieben. Die 2-Nitrobenzyl-Gruppe **29** wurde bereits in der Vergangenheit verwendet, um eine Reihe unterschiedlicher Gruppen, wie Thiole, Thiophosphate, Phosphate, Aminogruppen und Alkohole, zu schützen. Es wurden mit der Zeit unterschiedliche Modifikationen an der Benzylgruppe sowie am aromatischen Ring vorgenommen, um die photochemischen Eigenschaften dieser Gruppe zu verbessern.<sup>[100]</sup> Die Gemeinsamkeit dieser unterschiedlichen 2-Nitrobenzyl-Schutzgruppen ist, dass sie die Austrittsgruppe an der benzylicen Position tragen und das geschützte Substrat bei Bestrahlung mit der für das jeweilige Derivat spezifischen Wellenlänge freisetzen.<sup>[96]</sup> Die 2-Nitrophenylethyl-Gruppe (NPE-Gruppe) **30** unterscheidet sich strukturell ausschließlich durch die zusätzliche Methylgruppe an der benzylicen Position von der 2-NB-Gruppe **30**. Sowohl die 2-NB-Gruppe **29** als auch die NPE-Gruppe **30** können durch die Bestrahlung mit Licht einer Wellenlänge von ca. 265 nm photolytisch gespalten werden. Die zu verwendende Wellenlänge ist von dem Absorptionsmaximum des Derivats abhängig, kann jedoch durch die Einführung unterschiedlicher Reste beeinflusst werden.<sup>[100]</sup> Das Problem ist jedoch, dass bei dieser Wellenlänge alle aromatischen Systeme angeregt werden, was zu unerwünschten Nebenreaktionen führen kann. Durch die Modifikation des aromatischen Systems der beiden Photomasken mit zwei Donorsubstituenten, wie den Methoxygruppen (Abb. 4.8, Verbindung **31** und Verbindung **32**) konnte eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums zu ca. 350 nm beobachtet werden.<sup>[101,102,103]</sup> Dies führt dazu, dass die Masken bei Verbindung **31** und Verbindung **32** im biologischen Kontext abgespalten werden können.<sup>[96,102,103]</sup>

Ein bekanntes Problem bei der Verwendung von 2-Nitrobenzyl-Schutzgruppen (Abb. 4.8, 2-NB **29** und NV **31**) im biochemischen Kontext ist, dass durch die Freisetzung der gewünschten aktiven Verbindung das 2-Nitrosobenzaldehyd freigesetzt wird. Diese Verbindung kann zu weiteren unerwünschten und für biologische Systeme schädliche Photoreaktionen führen.<sup>[104]</sup> Im Gegensatz dazu besitzen Nitrosoketone, die nach der Freisetzung der Nitrophenylethylgeschützten- und Nitroveratrylgeschützten Verbindungen (Abb. 4.8, NPE **30** und MeNV **32**) gebildet werden, eine verminderte Wahrscheinlichkeit für Nebenreaktionen.<sup>[96]</sup>

Der Wasserstofftransfer im angeregten Zustand spielt eine wesentliche Rolle für die Funktionalität vieler biologischer und chemischer Systeme. Die Phototautomerisierung der verschiedenen Nitrophenyl-Schutzgruppen führt zu einer Reihe an irreversiblen Reaktionen, die zur Abspaltung einer Abgangsgruppe R führen.<sup>[97]</sup> Der photoinduzierte Spaltmechanismus verläuft nach einem NORRISH-TYP-2-Mechanismus.<sup>[105]</sup> Dieser ist am Beispiel der Nitrobenzylgruppe **29** einer geschützten Abgangsgruppe R (z.B. Monophosphat, Nucleosid oder Carboxylat) in Abbildung 4.9 dargestellt.<sup>[96,97,105,106]</sup>



**Abb. 4.9:** Postulierter photoinduzierter Spaltmechanismus einer Nitrophenylethyl-Schutzgruppe, wobei eine Abgangsgruppe (z.B. Phosphat, Tosylat oder Carboxylat) frei wird.<sup>[96,104,106,107,108]</sup>

Durch die Absorption eines Photons mit der für die jeweilige Ausgangsverbindung **29** entsprechenden Wellenlänge erfolgt die Anregung dieser in einen angeregten Singulett-Zustand **33**. Es erfolgt im Zuge des *Intersystem-Crossing* ein Multiplizitätenwechsel in den angeregten Triplett-Zustand **34**. Im Triplett-Zustand erfolgt ein 1,5-Protonen-Shift von der Benzylgruppe zum Nitrososubstituenten, wobei sich das Triplett-Biradikal **35** bildet.<sup>[88,96]</sup> Die Photoumlagerungsreaktion (intramolekularer Wasserstofftransfer im angeregten Zustand) zum (Z)-*Ac*i-Nitro-Derivat **36** kann vom kurzlebigen angeregten Singulett-Zustand **33** oder über den angeregten Triplett-Zustand **35** erfolgen.<sup>[97,108,109]</sup> Aus den publizierten Daten von HURLEY *et al.* geht hervor, dass Nitrobenzol durch eine hohe Triplett-Ausbeute von mehr als 60 % gekennzeichnet ist.<sup>[110]</sup> In Arbeiten von TAKEZAKI *et al.*

wurden mit Hilfe der Pikosekunden zeitaufgelösten Thermogravimetrische (TG)-Methode die photophysikalischen Prozesse von Nitrobenzol untersucht. Aus den thermischen Energien, die durch die strahlungslosen Relaxationsprozesse freigesetzt werden, ergaben sich Triplett-Ausbeuten von mehr als 80 %.<sup>[111]</sup>

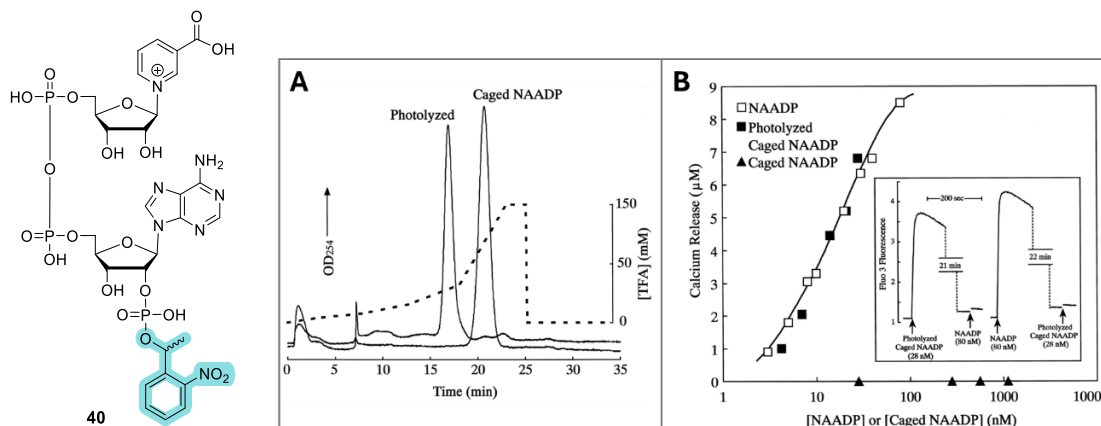
Es wird angenommen, dass die *Aci*-Nitro-Spezien die primären Grundzustand-Zwischenprodukte während dieser Photospaltungsreaktionen sind.<sup>[108]</sup> In wässriger Lösung erfolgt die Äquilibrierung zwischen dem (Z)-*Aci*-Nitro-Isomer **36** und dem (E)-*Aci*-Nitro-Isomer **37** durch den Protonenaustausch zwischen den Sauerstoffatomen der Nitrogruppe. Ausgehend vom (E)-*Aci*-Isomer **37** erfolgt der Ringschluss zum Benzisoxalidin-Derivat **38**. Es erfolgt nach der Ringöffnung und der Abgabe eines Protons die Eliminierung des Substrats R unter Ausbildung der Nitrosoverbindung **39**.<sup>[96,108]</sup>

#### 4.4.2 *Photocaged* NAADP

Eine zweite Variante eines maskierten NAADPs stellt das von LEE *et al.* publizierte *photocaged* NAADP **40** dar.<sup>[92]</sup> Das *photocaged* NAADP **40** wurde synthetisiert, um eindeutig nachweisen zu können, dass NAADP **3** Ca<sup>2+</sup>-Speicher in lebenden Zellen mobilisieren kann. Es konnte mit Hilfe des *photocaged* NAADP **40** festgestellt werden, dass in lebenden Seeigeleiern spontane Ca<sup>2+</sup>-Schwingungen, die länger als 30 Minuten anhalten, erzeugt werden können. Auch durch die Entfernung von externem Ca<sup>2+</sup> wird diese Oszillation nicht aufgehoben. Dies deutet darauf hin, dass die Calciumionen auch aus internen Speichern stammen.<sup>[92]</sup>

Das NAADP **3** besitzt eine Carboxy-Gruppe und drei Phosphatgruppen, die alle potentiell mit dem *caging*-Reagenz 1-(2-Nitrophenyl)diazoethan reagieren können. Das sich die NPE-Gruppe **30** am 2'-Phosphat befindet, wurde durch die Verschiebungen der Signale im <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum angenommen. Diese Signale wurden zudem mit den Signalen aus den <sup>31</sup>P-NMR-Spektren vom NAADP **3** verglichen. Es konnte das 2'-photomaskierte NAADP **40** erhalten werden. Jedoch liefert die in dieser Studie beschriebene Synthese nur eine geringe Ausbeute.<sup>[92]</sup>

Die von LEE *et al.* vorgeschlagene Struktur des *photocaged* NAADPs **40** ist in Abbildung 4.10 (links) gezeigt.<sup>[92]</sup>



**Abb. 4.10:** Struktur des publizierten *photocaged* NAADPs **40** (links). Analyse des maskierten NAADP-Derivats **40** vor und nach der UV-Bestrahlung (eine Minute) mittels Anionenaustausch HPLC (A). Vergleich der Abhängigkeit der Calciumionen-Freisetzung der *photocaged* Verbindung **40** nach und vor der Bestrahlung mit Licht und des unmaskierten NAADPs **3**. Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung wurde in Homogenaten von Seeigelleiern gemessen, durch den  $\text{Ca}^{2+}$ -Indikator Fluo-3 detektiert und die Photolyse wurde durch die UV-Bestrahlung (für eine Minute bei 0-4 °C) in einem photochemischen Reaktor durchgeführt (B).<sup>[92]</sup>

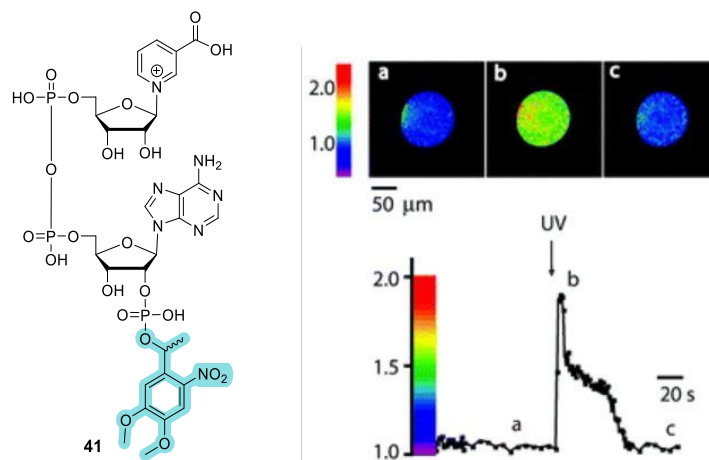
Die Probe wurde vor und nach der Photolyse mittels HPLC analysiert. Es konnte beobachtet werden, dass sich die Retentionszeit des demaskierten Produkts (nach der Photolyse) nicht von der des NAADPs **3** unterschied. Im Vergleich dazu war die Retentionszeit des *photocaged* NAADPs **40** verschoben (Abbildung 4.10 (A)). Die Einführung einer NPE-Gruppe **30** am 2'-Phosphat führte jedoch nicht zu einer ausreichenden Steigerung der Lipophilie, sodass die passive Diffusion dieser Verbindung **40** durch die Zellmembran nicht möglich ist. Um die Verwendung von *photocaged* NAADP **40** in lebenden Zellen zu untersuchen, muss daher weiterhin mit der invasiven Methode, der Mikroinjektion, gearbeitet werden.<sup>[92]</sup>

Es konnte von LEE *et al.* bestätigt werden, dass das photolysierte Produkt (schwarzes Quadrat) einen Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in Homogenaten von Seeigelleiern bewirkte. Zudem war die Konzentrationsabhängigkeit nicht von der des NAADPs **3** (weißes Quadrat) zu unterscheiden (Abb. 4.10 (B)). Das *photocaged* NAADP **40** (schwarzes Dreieck) weist hingegen bei Konzentrationen von bis zu 1 µM keine Calciumionen-Freisetzung auf. Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass nach der schnellen  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung, induziert durch das photolysierte NAADP, nach einer anschließenden Injektion des NAADPs **3** keine weitere  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung erfolgte. Da die umgekehrte Injektionsreihenfolge zum selben Ergebnis führt, kann geschlussfolgert werden, dass es sich bei dem photolysierten Produkt um das NAADP **3** handelt.<sup>[92]</sup>

In Abbildung 4.11 ist eine zweite *photocaged* Verbindung **41** dargestellt. Diese wurde in Arbeiten von PARKESH *et al.* erfolgreich synthetisiert.<sup>[112]</sup> Im Gegensatz zum NPE-maskierten Derivat **40** wurde diese Verbindung mit einer MeNV-Gruppe **32** am

2'-Phosphat maskiert. Die Synthese dieser Verbindung erfolgte über die in Abschnitt 4.2 erläuterte Basenaustauschreaktion. Es wurde bei dieser Arbeit zwar auch das jeweilige Diazoderivat der Photomaske verwendet. Dieses wurde jedoch im Gegensatz zu Arbeiten von LEE *et al.* an das NADP **4** geknüpft und im Anschluss konnte über die Basenaustauschreaktion unter Verwendung der Nicotinsäure das MeNV-geschützte NAADP-Derivat **41** erhalten werden. Über diesen Weg der Synthese sollten Nebenreaktionen, wie die Maskierung der Carboxylatgruppe vermieden werden.<sup>[112]</sup>

Im Gegensatz zur NP-Gruppe **30** wurde in dieser Arbeit die MeNV-Gruppe **32** verwendet, da die Anwesenheit der elektronenspendenden Methoxygruppen am Aromaten eine schnellere Freisetzung vom NAADP **3** in biologischen Systemen ermöglichen soll.<sup>[112,113]</sup>



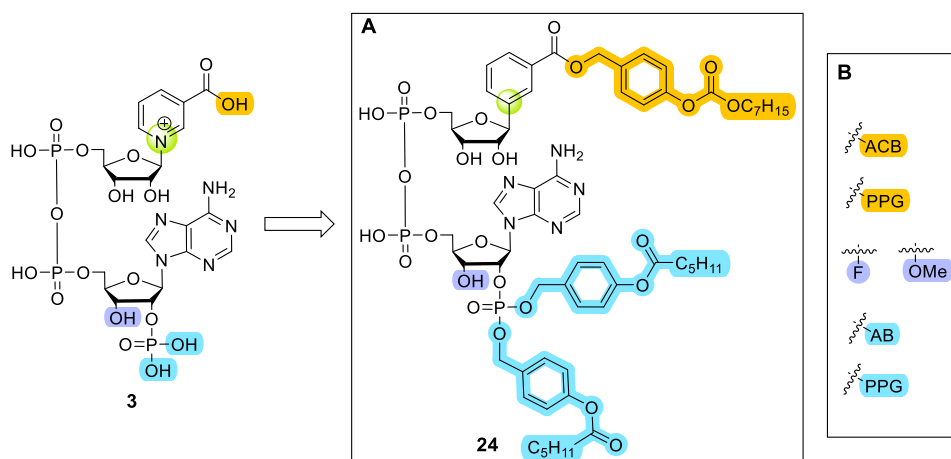
**Abb. 4.11:** Struktur des publizierten MeNV-*photocaged* NAADPs **41** (links). Effekt nach Abspaltung der MeNV-Gruppe **32** auf die Ca<sup>2+</sup>-freisetzende Wirkung in intakten Seegeleiern (rechts).<sup>[112]</sup>

Die Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung wurde mit 488-BAPTA-Dextran-Oregon-Green sichtbar gemacht. Dieses wurde zusammen mit dem *photocaged* NAADP-Derivat **41** in die Seegeleier injiziert. Die darauffolgende Bestrahlung mit UV-Licht führte zu einem Anstieg der Calciumionen (Abb. 4.11 (A)). Dieser Anstieg stimmt mit dem der NAADP **3**-Freisetzung überein.<sup>[112]</sup>

## 5 Aufgabenstellung

Nicotinsäureadeninindinukleotidphosphat (NAADP) **3** ist ein sekundärer Botenstoff, der bereits in nanomolaren Konzentrationen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen aus intrazellulären Speichern mobilisieren kann. Unter den bekannten  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Botenstoffen erwies er sich als der bisher potenteste.<sup>[114]</sup> Unter physiologischen Bedingungen ist NAADP **3** negativ geladen und kann daher nicht passiv durch die Zellmembran diffundieren. Um jedoch die Wirkung vom NAADP **3** in intakten Zellen zu untersuchen, werden derzeit Methoden wie die Mikroinjektion<sup>[11]</sup> oder die Infusion über eine *patch-clamp*-Pipette<sup>[10]</sup> genutzt. Diese invasiven Methoden führen jedoch häufig zu falsch positiven Ergebnissen oder zu Artefakten aufgrund eines erhöhten Stressniveaus der Zellen. Um das Problem dieser inkohärenten Resultate zu umgehen, wurde in der Forschungsgruppe von MEIER in den letzten Jahren an der Entwicklung von Totalsyntheserouten für verschiedene *Membran permeable*, *STabilized*, *bioEversibly pRotected* (MASTER)-Derivate gearbeitet. Die Synthese dieser Derivate sollte ein Zugang zu einem einfachen und effizienten Tool sein, um eine nicht invasive intrazelluläre Applikation zu ermöglichen, wobei diese Derivate passiv in die Zelle diffundieren können.

Es wurde der Ansatz verfolgt, die einzelnen Monophosphat-Bausteine gezielt zu maskieren, um sie anschließend zum MASTER-NAADP-Derivat zu koppeln. Dies ermöglicht es, die lipophilen Masken an den gewünschten Positionen einzuführen.



**Abb. 5.1:** Chemische Struktur des nativen NAADPs **3** und die möglichen Stellen für die Derivatisierung dieses Moleküls, dargestellt durch verschiedene Farben (Mitte). Das von DEKIERT<sup>[15]</sup> synthetisierte 3'-OH-MASTER-NAADP-Derivat **24**, welches als Leitstruktur für diese Arbeit diente (A). Mögliche Modifikationen für neue  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilisierende MASTER-NAADP-Derivate (B).

Das 3'-OH-NAADP-Derivat **24** wurde mit den bereits bekannten Alkoxy-carboxybenzyl- und Acyloxybenzyl-Einheiten, die in der Zelle durch Esterasen gespalten werden können, modifiziert (Abb. 5.1, orange und blau).<sup>[76,84]</sup>

Um die Stabilität der MASTER-Verbindung zu erhöhen, wurde in der Vergangenheit die *N*-glykosidische Bindung der Nicotinsäure durch ein C-Glycosid ersetzt (siehe Abb. 5.1, grün markiert).<sup>[15]</sup>

Das in Abbildung 5.1 dargestellte 3'-OH-MASTER-NAADP-Derivat **24** wurde bereits in Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen von MEIER und GUSE synthetisiert und untersucht. In den ersten zellbiologischen Untersuchungen am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) konnte eine Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung innerhalb von wenigen Sekunden nach der Inkubation der Zellen beobachtet werden.<sup>[15]</sup> Aus diesem Grund wurde das 3'-OH-MASTER-NAADP-Derivat **24** als Leitstruktur für diese Arbeit genutzt.

Das erste Ziel dieser Arbeit bestand in der Synthese weiterer stabilisierter MASTER-NAADP-Derivate, ausgehend vom 3'-OH-MASTER-NAADP **24**. Die erste Modifikation sollte an der 3'-Position erfolgen, weil in der Vergangenheit die Migration dieser maskierten 2'-Phosphatgruppe beobachtet wurde.<sup>[14,15]</sup> Um den nucleophilen Angriff der 3'-Hydroxygruppe am 2'-Phosphat unter Bildung eines cyclischen Phosphordiesters und anschließender Ringöffnung, die zur Migration des Phosphats führt, zu unterbinden, soll die 3'-Position fluoriert werden. Zudem soll dadurch eine extrazelluläre Spaltung der bioreversiblen Masken, die durch die Phosphatmigration induziert wird, unterbunden werden.

Das zweite Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung neuartig maskierter MASTER-NAADP-Derivate. Diese sollten sich aus einer Maskenkombination von bioreversiblen- und photolabilen-Masken zusammensetzen. Durch die enzymatische Spaltung der lipophilen Masken in der Zelle wird ein vorteilhafter „*lock-in*-Effekt“ und die damit verbundene Akkumulation des *photocaged* NAADP-Derivats erzielt. Das *photocaged* NAADP-Derivat kann durch anschließende Bestrahlung räumlich und zeitlich kontrolliert in der Zelle freigesetzt werden.

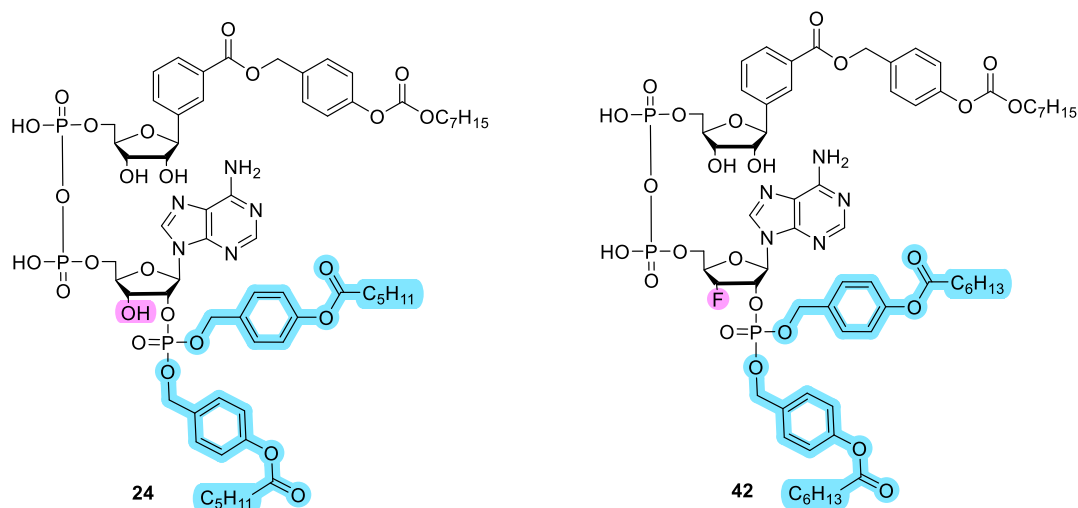
Die synthetisierten MASTER-NAADP-Verbindungen sollten im Anschluss hinsichtlich ihrer chemischen und enzymatischen Stabilität untersucht werden. MASTER-NAADP-Derivate die zusätzlich photolabile Masken tragen, sollten darüber hinaus im Hinblick auf ihre photolytischen Eigenschaften untersucht werden.

Die in dieser Arbeit synthetisierten Derivate sollten schlussendlich in Zellstudien zur Untersuchung des Ca<sup>2+</sup>-Freisetzungspotentials in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von GUSE am UKE im Rahmen des SFB 1328 untersucht werden.

## 6 Resultate und Diskussion

### 6.1 Synthese des 3'-F-MASTER NAADPs

Ausgehend von der von DEKIERT synthetisierten Leitstruktur 3'-OH-MASTER-NAADP **24** sollte die Totalsynthese eines neuen 3'-modifizierten MASTER-NAADP-Derivats **42** erprobt werden.<sup>[15]</sup> MASTER steht in diesem Fall für *Membrane permeAble, STabilized, bioREversibly pRotected* Vorläuferverbindungen des NAADPs. Bei dieser Synthese soll, wie bereits in Arbeiten von DEKIERT und RUTHENBECK, die Synthesestrategie verfolgt werden, die beiden Grundbausteine gezielt zu maskieren, um schließlich das gewünschte maskierte NAADP-Derivat zu erhalten.<sup>[14,15]</sup> Abbildung 6.1 zeigt die Struktur des von DEKIERT synthetisierten 3'-OH-MASTER-NAADP-Derivats **24**,<sup>[15]</sup> das als Leitstruktur für diese Arbeit dient und die Struktur des 3'-modifizierten MASTER-NAADP-Derivats **42**, dessen Synthese im Rahmen dieser Arbeit erprobt werden sollte.



**Abb. 6.1:** Chemische Struktur des von DEKIERT synthetisierten 3'-OH-MASTER-NAADP-Derivats **24**,<sup>[15]</sup> welches als Leitstruktur für diese Arbeit dient und die Struktur des 3'-modifizierten MASTER-NAADP-Derivats **42**, dessen Synthese im Rahmen dieser Arbeit erprobt werden sollte.

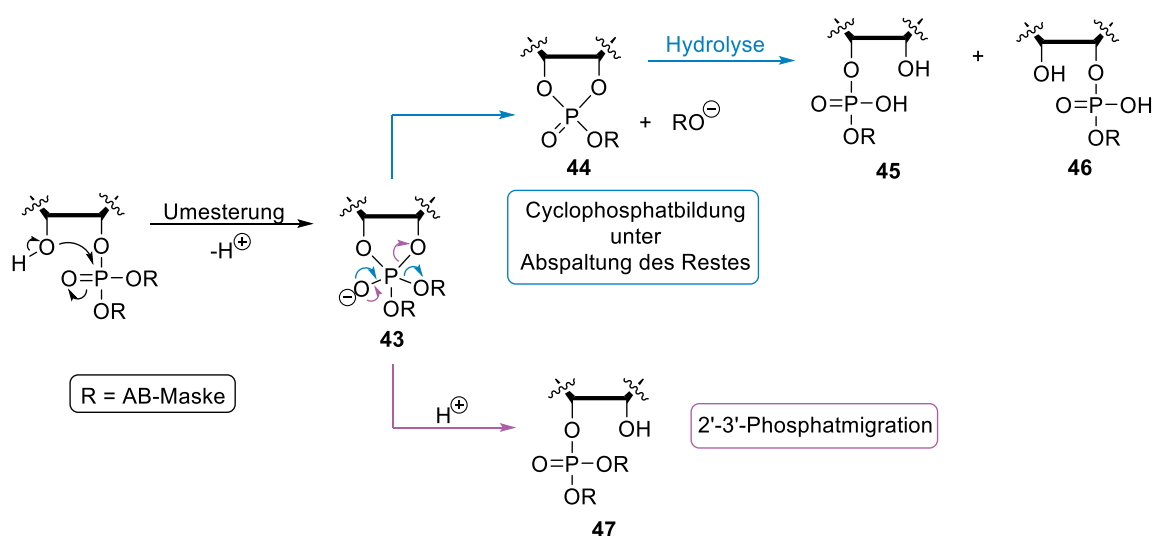
Im ersten Teil dieser Arbeit sollte die Synthese des lipophil maskierten, 3'-fluorierten MASTER-NAADPs **42** erprobt werden. Die Fluorierung der 3'-Position soll erfolgen, um die 2'-3'-Phosphatmigration zu verhindern. In der Vergangenheit konnte bei Syntheseversuchen von RUTHENBECK die Migration der 2'-Phosphatgruppe am Adenosin beobachtet werden.<sup>[14]</sup>

Besonders herausfordernd war es in der Vergangenheit, eine Synthesestrategie zu entwickeln, bei der die 3'-Position bis zum Ende geschützt blieb und Synthesebedingungen zu finden, bei denen im Zuge der Abspaltung der Schutzgruppe die Migration der 2'-Phosphatgruppe nicht erfolgte.<sup>[14,15]</sup> DEKIERT beschreibt, dass während der Überprüfung

der chemischen Stabilität des 3'-OH-MASTER-NAADP-Derivats **24** in physiologischem Phosphatpuffer (PBS-Puffer, *phosphate buffer saline*) die Spaltung einer bioreversiblen Maske am 2'-Phosphat bereits nach einer Stunde erfolgte, was auf eine chemisch induzierte Phosphatmigration zurückzuführen ist. Auch bei den Anwendungen in den Bioassays zeigte sich eine rasche Polaritätszunahme des Derivats **24** und ein daraus resultierendes gehemmtes Diffusionsvermögen.<sup>[15]</sup>

Nicht nur die schnellere Spaltung der lipophilen Masken, was die passive Diffusion erschweren kann, stellt ein Problem dar. Es ist zudem auch möglich, dass es bereits bei Versuchen der intrazellulären Einbringung zu einer frühzeitigen Migration der 2'-Phosphatgruppe kommen kann, was die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Aktivität während der Zelltests gegebenenfalls herabsetzt. Wie in Abschnitt 4.2.1 bereits beschrieben behält das jeweilige Derivat zwar seine  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Wirkung, egal ob sich die Phosphatgruppe an der 3'- oder 2'-Position der Ribose befindet oder cyclisch mit beiden Positionen verknüpft ist. Es zeigt sich jedoch eine Abnahme der  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Wirkung.

In Abbildung 6.2 ist die 2'-3'-Phosphatmigration (lila) dargestellt. Zudem ist auch die im Zuge dessen mögliche Cyclophosphatbildung (blau) dargestellt, bei der es zur Spaltung der Phosphatesterbindung kommt.



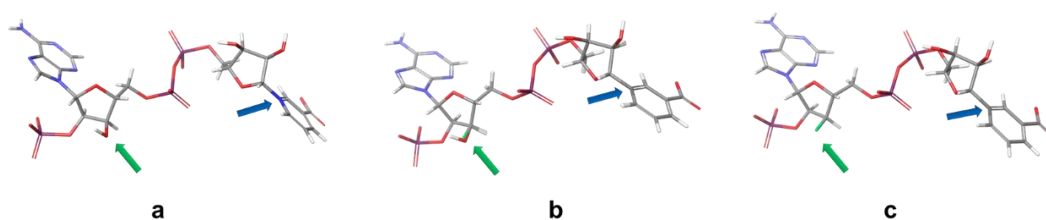
**Abb. 6.2:** Phosphatmigration und Cyclophosphatbildung unter Spaltung der Phosphoresterbindung.<sup>[115,116]</sup>

Die Umesterung kann chemisch oder enzymatisch katalysiert werden. Bei der chemischen Katalyse greift die deprotonierte 3'-Hydroxygruppe nucleophil am positiv polarisierten Phosphoratom unter Bildung eines 2'-3'-cyclischen Phosphat-Intermediats (Phosphoran-Intermediat) **43** an. Die Bildung des cyclischen Phosphats **44** erfolgt nach der Spaltung der Phosphatesterbindung und Eliminierung des Alkoxids. Das aus dem Intermediat **43**

gebildete cyclische Phosphat **44** wird anschließend zum 3'-Phosphat **45** oder 2'-Phosphat **46** hydrolysiert (Abb. 6.2, blau). Über die Bildung des Phosphoran-Intermediats **A** ist jedoch auch eine säurekatalysierte Phosphatmigration möglich, der zur Bildung des 3'-Phosphats **47** (Abb. 6.2, lila) führt.<sup>[115,116]</sup>

Um die oben beschriebene Migration der Phosphatgruppe, die mögliche Spaltung des Phosphatesters und die daraus resultierenden Schwierigkeiten sowohl bei der Synthese als auch bei biologischen Tests zu vermeiden, sollte die 3'-Hydroxygruppe im Rahmen dieser Arbeit durch ein Fluoratom substituiert werden.

Die Modellierung des nicht maskierten jedoch stabilisierten 3'-F-NAADPs und die Überlagerung mit dem nativen NAADP **3** zeigten eine sehr ähnliche Gesamtstruktur von NAADP **3** und seiner synthetischen demaskierten Variante, die aus dem 3'-F-MASTER-NAADP **42** in Zellen freigesetzt werden soll. Die computergestützte molekulare Modellierung der Strukturen des nativen NAADPs **3** und des demaskierten 3'-F-MASTER-NAADP-Derivats wurde mit MAESTRO durchgeführt und ist in Abbildung 6.3 dargestellt.

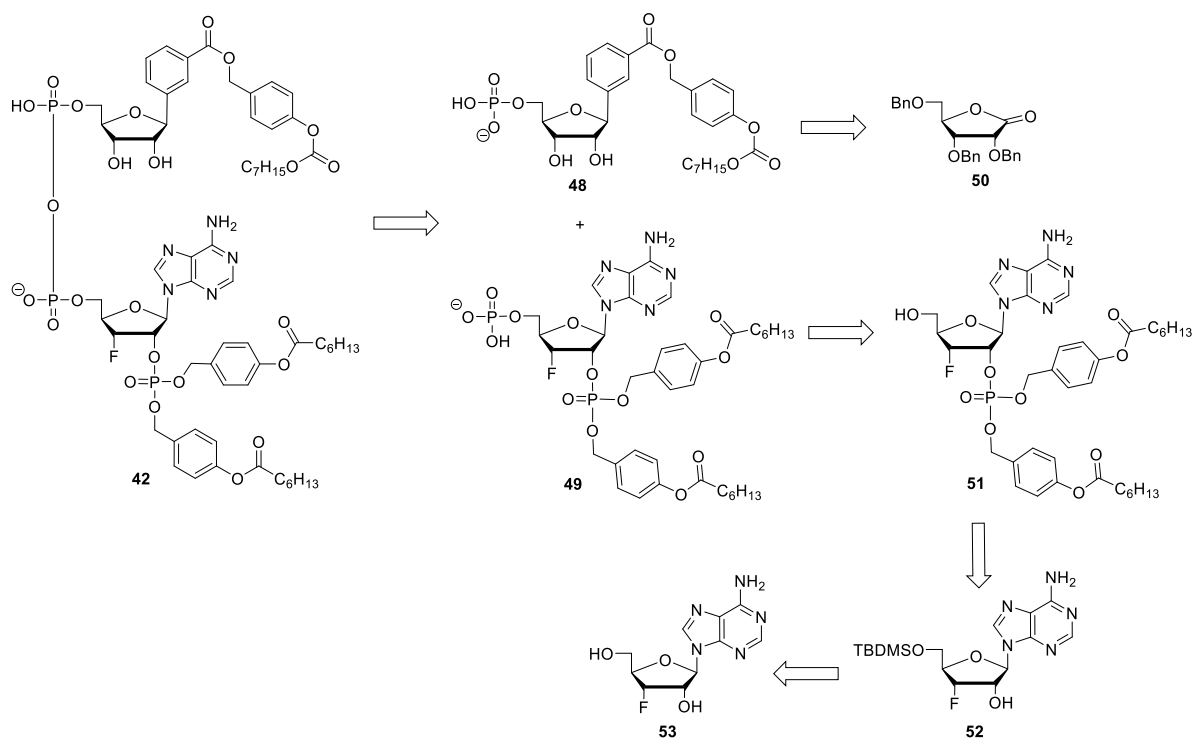


**Abb. 6.3:** Molekulare Modellierung von: (a) NAADP **3**, (b) Überlagerung des NAADP **3** mit dem Benzoessäure-C-Nucleosid-3'-F-adenosin-2',5'-diphosphat, (c) Benzoessäure-C-Nucleosid-3'-F-adenosin-2',5'-diphosphat. Hervorzuheben sind die 3'-Hydroxygruppe, die 3'-Fluorgruppe und die Überlagerung dieser beiden Gruppen (grüner Pfeil) sowie die C-glykosidische Position, die N-glykosidische Position und die Überlagerung dieser beiden Struktur motive (blauer Pfeil).

Im Rahmen solcher Strukturoptimierungen wird untersucht, inwieweit einzelne Strukturelemente unter Beibehalt ihrer Aktivität modifiziert werden können, wie beispielsweise die Substitution einer Hydroxygruppe durch ein Fluoratom (Abb. 6.3, grüner Pfeil). Solche Struktur-Aktivitätsbeziehungen (*structure-activity relationships*) können als Modell zur Vorhersage der biologischen Wirksamkeit verwendet werden. In Abbildung 6.3 (b) ist keine wesentliche strukturelle Abweichung zum nativen NAADP **3** zu erkennen. An dieser Stelle ist nochmal besonders hervorzuheben, dass vor allem die Lage der strukturelevanten funktionellen Gruppen ausschlaggebend ist, die sich als entscheidend für die Ca<sup>2+</sup>-freisetzende Wirkung herausstellten (siehe Abschnitt 4.2.1).

Die Fluorierung von Nucleosiden hat sich bereits bei diversen Nucleosidanaloga als vorteilhaft erwiesen. Es konnten in der Vergangenheit bereits eine Reihe wichtiger Arzneimittel durch die Synthesen von fluorsubstituierten Analoga entwickelt werden. Durch die Fluorierung von Nucleosidstrukturen lassen sich die pharmakologischen Eigenschaften variieren oder sogar verbessern.<sup>[117,118]</sup> Viele fluorierte Nucleosidanaloga binden an Enzyme, deren Substrate natürliche Nucleoside sind. Die fluorierten Nucleosidanaloga unterscheiden sich kaum in ihrer dreidimensionalen Struktur von den natürlichen Nucleosiden. Die strukturelle Ähnlichkeit ist ein großer Vorteil. Fluor ist eine bioisostere Gruppe zur Hydroxygruppe und zum Wasserstoffatom, was auf die ähnlichen physikalischen oder chemischen Eigenschaften zurückzuführen ist. Die Bindungslänge von C-F mit 1.35 Å ist der Bindungslänge der C-O-Bindung (1.43 Å) sehr ähnlich.<sup>[117]</sup>

Die Synthese des 3'-F-MASTER-NAADPs **42** sollte, wie im Retrosyntheseschema in Abbildung 6.4 dargestellt, erfolgen.



**Abb. 6.4:** Retrosyntheseschema zur Darstellung des 3'-F-MASTER-NAADP-Derivats **42**.

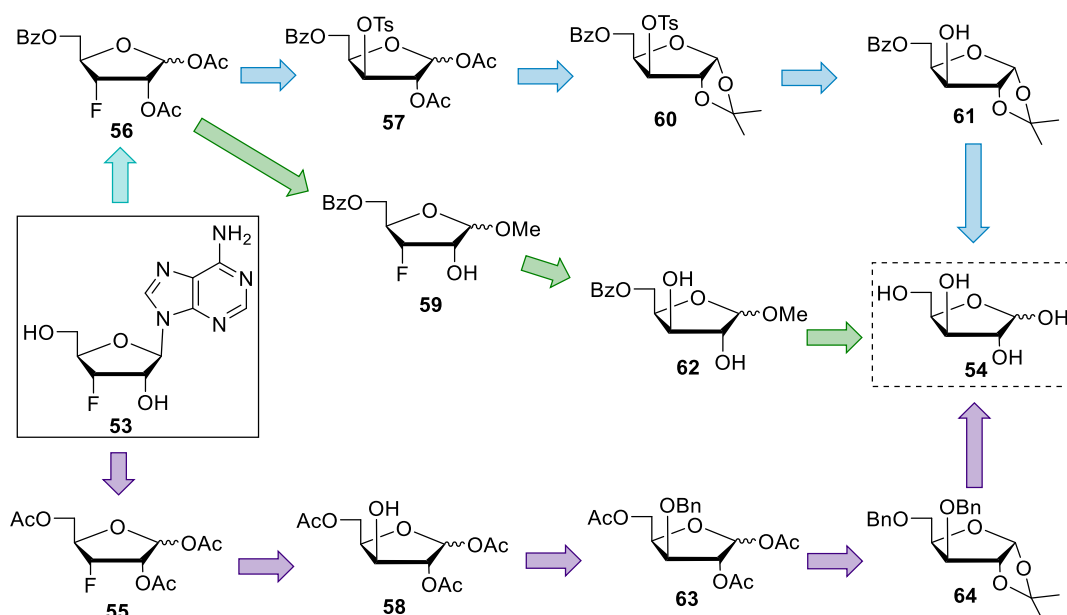
Das 3'-F-MASTER-NAADP **42** sollte im finalen Syntheseschritt durch die Kupplung der beiden Monophosphate **48** und **49** erhalten werden. Das Benzoessäureester-Monophosphat **48** sollte in Anlehnung an die bereits erprobte Syntheseroute von DEKIERT<sup>[15]</sup> ausgehend vom Lacton **50** synthetisiert werden. Auf die Syntheseroute wird in Abschnitt 6.1.2 genauer eingegangen. Das maskierte 3'-F-Adenosindiphosphat **49** sollte durch die Phosphorylierung der 5'-Hydroxygruppe des Adenosin-Derivats **51** erhalten werden. Für die selektive Phosphorylierung an der 2'-Position, ausgehend vom 3'-F-Adenosin **53** sollte

dieses zuvor an der 5'-Position silyliert werden, damit die 5'-Hydroxygruppe nach erfolgter 2'-Monophosphorylierung orthogonal demaskiert werden kann.

### 6.1.1 Synthese des 3'-Desoxy-F-Adenosins

Für die Synthese von 3'-F-Adenosin **53** wurden drei verschiedene Synthesewege in Betracht gezogen. Die Synthesewege unterscheiden sich in ihren Schutzgruppenstrategien und in der Verwendung unterschiedlicher Fluorierungsreagenzien. Die mit der nukleophilen Kohlenstoff-Fluor-Bindungsbildung verbundenen Herausforderungen sind hauptsächlich auf die hohe Elektronegativität des Fluors und die hohe Hydratationsenergie der Fluoridionen zurückzuführen. Der Ausschluss potentieller Wasserstoffbindungsdonatoren führt zur Steigerung der Nucleophilie des Fluoridions, erhöht aber zeitgleich seine Basizität, was häufig zu Nebenreaktionen führt.<sup>[119]</sup> Die nucleophile Desoxyfluorierung hat sich für die Synthese von Alkylfluoriden, sprich die Bildung einer C-F-Bindung an einem  $sp^3$ -hybridisierten Kohlenstoffatom, als besonders vorteilhaft erwiesen. Die Desoxyfluorierung von einem Alkohol zum entsprechenden Fluorid läuft meist über einen  $S_N2$ -Mechanismus ab und führt zur Inversion des Stereozentrums.<sup>[119,120]</sup> Aufgrund der Inversion des Stereozentrums soll die Synthese von 3'-F-Adenosin **53** ausgehend von der Xylose **54** erprobt werden, da dieses das C-3-Epimer der Ribose darstellt.

In Abbildung 6.5 sind die drei verschiedenen retrosynthetischen Ansätze zur Synthese von 3'-F-Adenosin **53** dargestellt.

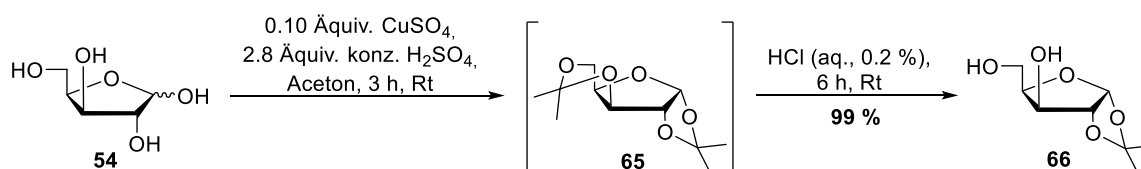


**Abb. 6.5:** Drei retrosynthetische Ansätze zur Synthese des 3'-F-Adenosins **53**, die sich in ihren Schutzgruppenstrategien voneinander unterscheiden.

Bei allen drei retrosynthetischen Ansätzen sollte das 3'-F-Adenosin **53** durch die Entschützung der jeweiligen Adenosinverbindungen hervorgehen, die zuvor durch die *N*-Glykosylierung aus den fluorierten Verbindungen **55** und **56** erhalten werden sollten. Für die blaue Route sollte die 3'-Tosyl-geschützte Verbindung **57** für die Fluorierung dargestellt werden. Für die violette und grüne Route sollte ein etwas anderer Syntheseansatz erprobt werden. Bei diesen beiden retrosynthetischen Ansätzen sollte das häufig eingesetzte Desoxyfluorierungsreagenz Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) zur Einführung des Fluors verwendet werden. Für die erste mögliche Fluorierung mit DAST (violette Route) sollte die Verbindung **58** selektiv geschützt werden, sodass nur die 3'-Position für den folgenden Fluorierungsschritt ungeschützt bleibt.

Im Gegensatz zum violetten retrosynthetischen Ansatz wird beim grünen retrosynthetischen Ansatz eine mögliche Fluorierung der 2-Position als Nebenreaktion in Kauf genommen.

Der erste Syntheseschritt ist bei allen drei Ansätzen gleich. Die Xylose **54** wird an der 1,2-Position mit einer *Isopropyliden*klammer geschützt. Es ist sehr wichtig die Xylose **54** auf diese Art und Weise zu schützen bevor weitere Schutzgruppen an der 5'-Position eingeführt werden. Der Grund dafür ist, dass sich in Lösung die offenkettige Form des Zuckers im Gleichgewicht mit seinen cyclischen Halbacetalen befindet.<sup>[121]</sup> Die D-Xylose **54** liegt in wässriger Lösung bei 31 °C zu 63 % in der  $\beta$ -Pyranoseform, zu 36 % in der  $\alpha$ -Pyranoseform, zu 0.02 % offenkettig und zu jeweils weniger als 1 % in der  $\beta$ -Furanose- und der  $\alpha$ -Furanoseform vor.<sup>[122,123]</sup> Das Gleichgewicht der D-Xylose **54** liegt daher überwiegend auf der Seite der Pyranoseform. Diese ist aufgrund der äquatorialen Anordnung der Hydroxylgruppen gegenüber der Furanoseform thermodynamisch begünstigt.<sup>[121,123]</sup> Außerdem treten bei der Furanoseform thermodynamisch ungünstige diaxiale Wechselwirkungen zwischen der Hydroxylgruppe am 3-Kohlenstoffatom und dem Rest am 4-Kohlenstoffatom auf.<sup>[123]</sup> Dieses Gleichgewicht verschiebt sich, wenn die Xylose **54** durch äußere Einflüsse, wie die Einführung der *Isopropyliden*klammer in 1,2-Position, in die Furanoseform gezwungen wird. Die Einführung der *Isopropyliden*klammer erfolgte unter den in Abbildung 6.6 dargestellten Reaktionsbedingungen.<sup>[124]</sup>

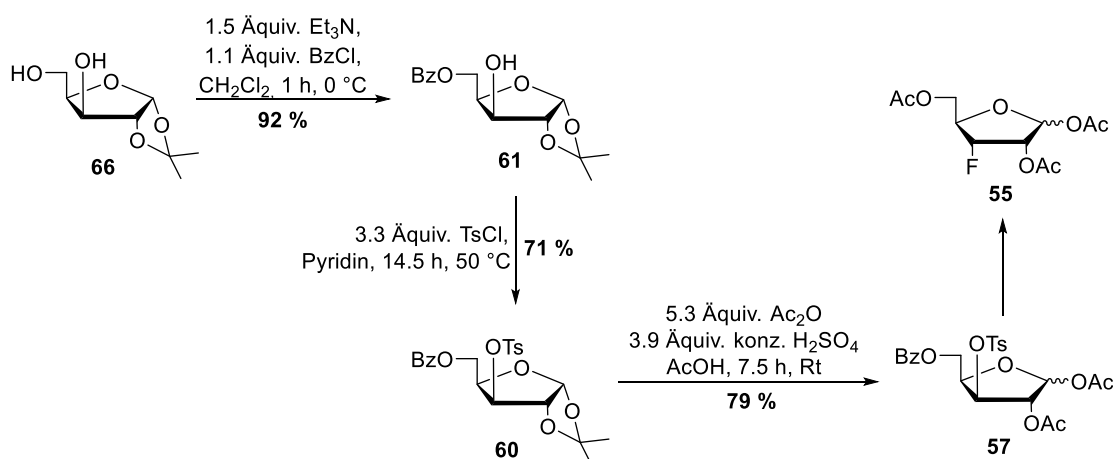


**Abb. 6.6:** Reaktionsbedingungen zur Synthese der *isopropylidengeschützten* Xylose **66**.

Zur Einführung der beiden *Isopropyliden*klammern in 1,2- und 3,5-Position wurde die D-Xylose **54** in Aceton suspendiert, konzentrierte Schwefelsäure und Kupfersulfat wurden zugegeben. Das wasserfreie Kupfersulfat entzieht das freigesetzte Wasser aus dem

Reaktionsgemisch, welches bei der säurekatalysierten Acetalbildung freigesetzt wird, was die Bildung des Zwischenprodukts **65** begünstigt. Nachdem ein vollständiger Umsatz beobachtet wurde, wurde die Reaktion durch Neutralisation des Reaktionsgemisches und anschließendem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck beendet. Der erhaltene Rückstand wurde im Anschluss mit 0.2 %iger Salzsäure zur 1,2-*O*-Isopropyliden-D-xylofuranose **66** umgesetzt. Aufgrund der unterschiedlichen Stabilitäten der beiden eingeführten Acetalklammern unter milden sauren Bedingungen konnte die 3,5-*O*-Isopropylidenklammer selektiv gespalten werden. Das gewünschte Produkt **66** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung in einer sehr guten Ausbeute von 99 % erhalten.

Ausgehend von der *Isopropyliden*-geschützten Xylose **66** wurde zuerst die Fluorierung über die 3'-Tosyl-geschützte Verbindung **76** verfolgt (Abb. 6.5, blaue Route), wie in Abbildung 6.7 dargestellt. Bei dieser Syntheseroute sollte die Fluorierung durch die Einführung der Tosylgruppe selektiv an der 3'-Position erfolgen. Die Tosylgruppe wird an dieser Stelle eingeführt, damit die schlechte Abgangsgruppe ( $\text{OH}^-$ ) in eine gute Abgangsgruppe, das Tosylat für die nucleophile Substitution durch das Fluorierungsreagenz, überführt wird.



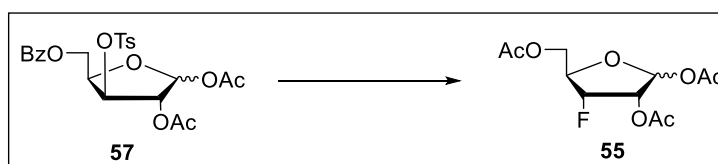
**Abb. 6.7:** Syntheseveruche zur Darstellung der 3'-fluorierten Ribose **55**.

Die Synthese der 3'-Tosyl-geschützten Xylose **60** erfolgte nach einer Vorschrift von ROY *et al.*, bei der im ersten Syntheseschritt die 1,2-*O*-Isopropyliden-geschützte Xylose **66** unter Verwendung von Benzoylchlorid und Triethylamin selektiv an der 5'-Position geschützt wurde.<sup>[125]</sup> Die 5'-benzoylierte Xylose **61** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 92 % isoliert. Im Anschluss wurde die 3'-Position von Verbindung **61** mit einer Tosylschutzgruppe versehen. Für die Schützung wurde Verbindung **61** mit Tosylchlorid in Pyridin bei 50 °C gerührt. Die Tosyl-geschützte Verbindung **60** wurde in einer Ausbeute von 71 % erhalten, was der Literaturausbeute entsprach.<sup>[125]</sup> Die Tosyl-geschützte Verbindung **60** sollte im nächsten Syntheseschritt nicht

direkt fluoriert werden. Vorerst sollte ein Schutzgruppenaustausch an den 1- und 2-Hydroxygruppen durchgeführt werden, um im Anschluss die acetylierte Verbindung **57** zu fluorieren. Dieser Syntheseschritt ist darauf zurückzuführen, dass in Arbeiten von DEKIERT bei den Fluorierungsversuchen der 3'-Position einer 1,2-Isopropyliden-geschützten Xylose anstelle des gewünschten fluorierten Produkts das Eliminierungsprodukt erhalten wurde. DEKIERT bezieht dies auf die Annahme, dass eine 1,2-O-Isopropyliden-D-xylose in der C3'-endo-Konformation vorliegt. Er beschreibt, dass aufgrund der in dieser Konformation günstigen *trans*-di axialen Stellung zwischen der C3'- $\beta$ -Abgangsgruppe und dem H-4'-Proton die Eliminierung bevorzugt abläuft.<sup>[15]</sup>

Der Schutzgruppenaustausch an den 1- und 2-Hydroxygruppen im dritten Reaktionsschritt sollte in Anlehnung an die Vorschrift von LI *et al.* erfolgen.<sup>[126]</sup> Zur Abspaltung der Isopropylidenklammer wurde die Verbindung **60** mit Essigsäure und konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Zusätzlich wurde Essigsäureanhydrid zugegeben, um die während dieses Reaktionsschritts freigesetzten Hydroxygruppen direkt zu acetylieren. Die diacetylierte Xylose **57** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 79 % erhalten werden. Nachdem die acetylierte Verbindung **57** erfolgreich synthetisiert wurde, sollte diese an der 3'-Position selektiv fluoriert werden. In Tab. 6.1 sind die verwendeten Reaktionsbedingungen für die Desoxyfluorierungsversuche aufgeführt.

**Tab. 6.1:** Syntheseveruche der selektiven Fluorierung von 1,2-Di-O-acetyl-3-O-tosyl-5-O-benzoyl-D-xylofuranose **57** (siehe Abb. 6.7).

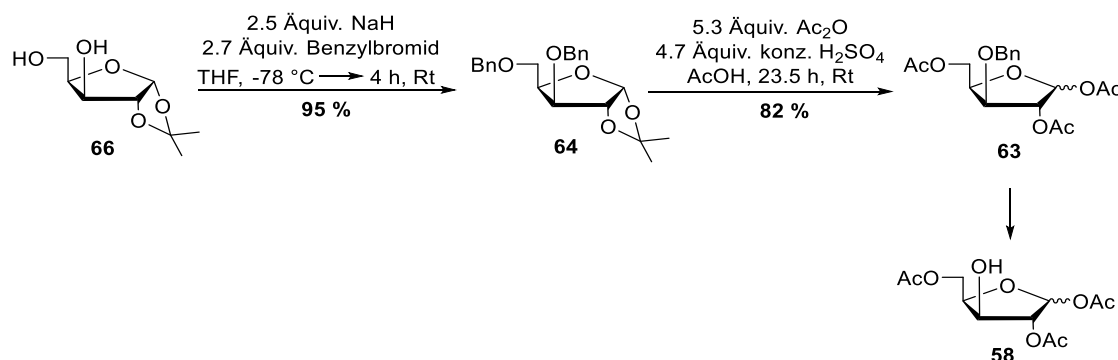


Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
<b>1</b> <sup>[127]</sup>	3.0 Äquiv. TBAF (1 M THF), THF, 0 °C → Reflux, 48 h	zersetzt
<b>2</b> <sup>[128]</sup>	2.8 Äquiv. Et <sub>3</sub> N·3HF, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → 40 °C, 30 h	kein Umsatz
<b>3</b> <sup>[129]</sup>	3.0 Äquiv. Cäsiumfluorid, <i>tert</i> -Butanol, 30 °C → 50 °C, 72 h	kein Umsatz

Es wurden für die Fluorierungsversuche der tosylierten Xylose **57** drei verschiedene gängige Fluorierungsreagenzien eingesetzt. Jedoch konnte keine der in Tabelle 6.1 dargestellten Reaktionsbedingungen zur Bildung des gewünschten Produkts **55** führen. Es kam in erster Linie gar nicht erst zum Umsatz der eingesetzten Verbindung **57**. Der

Fluorierungsversuch mit TBAF als Fluorierungsreagenz resultierte in einer vollständigen Zersetzung des Edukts **57**, nachdem die Reaktion zum Rückfluss erhitzt wurde, da kein Umsatz beobachtet werden konnte.

Angesichts der über diese Route nicht erfolgreichen 3'-Desoxyfluorierung sollte eine weitere Syntheseroute (Abb. 6.5, lila) erprobt werden, für diesen Ansatz sollte für die Fluorierung das Fluorierungsreagenz Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) genutzt werden. Der Einsatz dieses nucleophilen Desoxyfluorierungsreagenzes zur Einführung des Fluors unter sehr milden Reaktionsbedingungen ist die am weitesten verbreitete Methode. DAST wurde am häufigsten zur Fluorierung sauerstoffhaltiger Verbindung (Carbonyl- oder Hydroxy-Gruppen) oder schwefelhaltiger Verbindung verwendet. Die Alkoholfunktion wird bei der DAST-vermittelten Fluorierung *in situ* in eine gute Abgangsgruppe überführt und im Anschluss über einen  $S_N2$ -Mechanismus durch ein Fluoridanion substituiert. Dafür wird das Schwefelatom vom DAST nucleophil vom Sauerstoffatom (in diesem Fall, dass Sauerstoffatom der 3'-Hydroxygruppe) angegriffen, wodurch die Ausbildung des Alkoxyaminodifluorsulfan-Intermediats erfolgt.<sup>[119,130]</sup> Um die *Isopropyliden*-geschützte Xylose **66** an seiner 3'-Position zu fluorieren, sollte diese zuvor an der 5'-Position geschützt werden (Abb. 6.8).



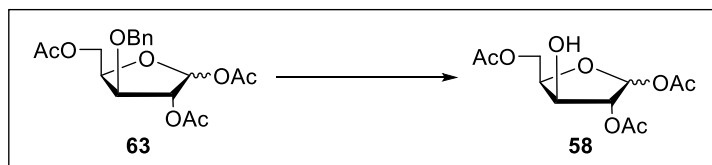
**Abb. 6.8:** Syntheseversuche zur Darstellung der 1,2,5-Tri-O-acetylxylofuranose **58**.

Die Benzylierung der *Isopropyliden*-geschützten Xylose **66** erfolgte nach einer Vorschrift von DE *et al.* (Abb. 6.8).<sup>[131]</sup> Es wurde eine Lösung des Diols **66** zu einer Suspension aus Natriumhydrid in THF gegeben. Dieses Reaktionsgemisch wurde gerührt, wobei die Deprotonierung des Diols **66** erfolgte, bis keine  $H_2$ -Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Für die Benzylierung wurde im Anschluss Benzylbromid zugetropft und die Suspension für vier Stunden gerührt, wobei diese langsam auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Das dibenzylierte Produkt **64** konnte in einer sehr guten Ausbeute von 95 % erhalten werden. Der Schutzgruppenaustausch an den 1- und 2-Hydroxygruppen sollte auch bei diesem Reaktionsschritt, wie bereits für die Tosyl-geschützte Verbindung **57** beschrieben (Abb. 6.7) in Anlehnung an die Vorschrift von LI *et al.* erfolgen.<sup>[126]</sup> Bei diesem Reaktionsschritt sollten

die 1- und 2-Positionen der Xylose **64** entschützt und im Anschluss im selben Reaktionsschritt acetyliert werden. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass unter den bestehenden sauren Reaktionsbedingungen nicht nur die 1- und 2-Positionen entschützt und anschließend acetyliert wurden, sondern auch die benzylierte 5-Position, wodurch die triacetylierte Verbindung **63** in einer Ausbeute von 82 % erhalten werden konnte. Dieser Reaktionsverlauf sollte jedoch als Vorteil im weiteren Syntheseverlauf genutzt werden, da nun nur noch die 3-Position benzyliert war und diese im folgenden Reaktionsschritt selektiv abgespalten werden sollte. Wäre die 5-Position noch benzyliert gewesen, wäre dies nicht möglich gewesen.

Anschließend sollte die Debenzylierung der Verbindung **63** erfolgen. Die für die Debenzylierung genutzten Reaktionsbedingungen sind in Tab. 6.2 dargestellt.

**Tab. 6.2:** Zusammenfassung der Syntheserversuche zur Debenzylierung von 1,2,5-Tri-O-acetyl-3-O-benzyl-xylofuranose **63** (siehe Abb. 6.8).

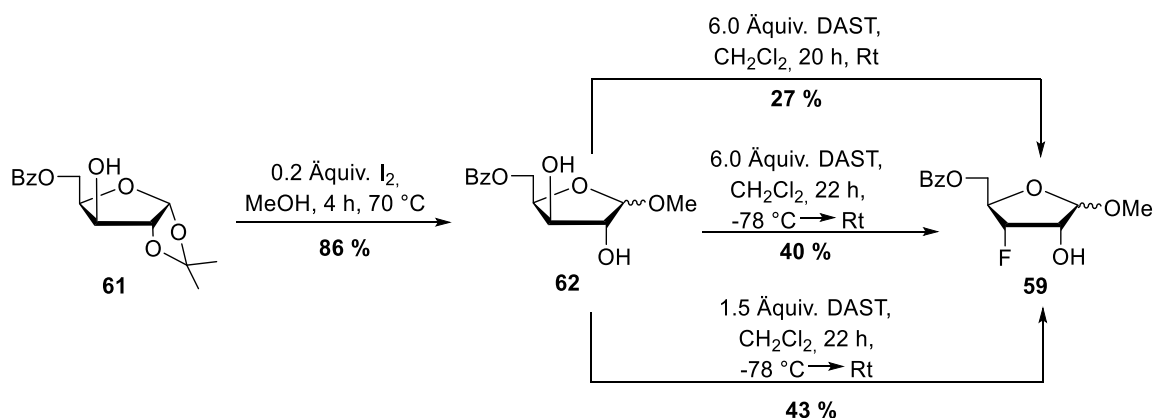


Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1 <sup>[132]</sup>	10 % Pd/C, H <sub>2</sub> , MeOH, Rt, 25 h	kein Umsatz
2 <sup>[132]</sup>	0.4 Äquiv. Pd(OH) <sub>2</sub> /C (20 %), H <sub>2</sub> , MeOH, Rt, 48 h	kein Umsatz
3 <sup>[133]</sup>	1.1 Äquiv. BCl <sub>3</sub> , DCM, -78 °C → -10 °C, 2 h	 <b>67</b>

Es stellte sich jedoch heraus, dass die Benzylgruppe im nächsten Syntheseschritt, unter den in Tabelle 6.2 zusammengefassten Synthesebedingungen, nicht erfolgreich abgespalten werden konnte. Zunächst wurde versucht, die Debenzylierung hydrogenolytisch unter Wasserstoffatmosphäre mit einem Palladium-Katalysator auf Aktivkohle durchzuführen. Es wurden zwei unterschiedliche Katalysatoren eingesetzt, es konnte jedoch bei beiden Syntheserversuchen (Eintrag 1 und 2) kein Umsatz beobachtet werden. Als dritte Option sollte die Debenzylierung unter Verwendung von Bortrichlorid in Dichlormethan erprobt werden. Bei dieser Reaktion wurde die Bortrichlorid-Lösung bei -78 °C zur Reaktionslösung getropft und diese dann für zwei Stunden gerührt, wobei sich die Reaktionslösung auf -10 °C erwärmte. Es konnte nach zwei Stunden zwar ein

vollständiger Umsatz des Edukts **63** beobachtet werden, jedoch konnte das gewünschte Produkt **58** nicht isoliert werden. Anstelle der Debenzylierung erfolgte unter diesen Reaktionsbedingungen (Eintrag 3) die Spaltung der Acetylgruppe am anomeren Zentrum. Das unerwünschte Nebenprodukt **67** wurde in einer schlechten Ausbeute von 45 % erhalten.

Das 3'-fluorierte Adenosin **53** konnte über die ersten beiden vorgeschlagenen retrosynthetischen Wege (Abb. 6.5, blau und lila) nicht erfolgreich dargestellt werden, weshalb der dritte retrosynthetische Ansatz (Abb. 6.5, grüne Route) ausgehend von der benzylierten Xylose **61** nach einer Vorschrift von MIKHAILOPULO und SIVETS verfolgt wurde.<sup>[134,135]</sup> Die Beschreibung der Synthese der benzylierten Xylose **61** erfolgte bereits zu Beginn dieses Abschnitts (Abb. 6.7). In Abbildung 6.9 sind die verwendeten Reaktionsbedingungen zur Synthese der 1-Methoxy-3-fluor-5-O-benzoylribofuranose **59** dargestellt.

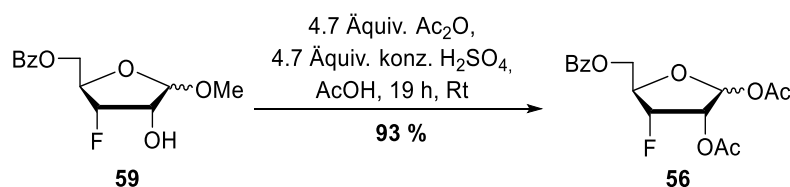


**Abb. 6.9:** Synthesebedingungen zur Darstellung von 1-Methoxy-3-fluor-5-O-benzoylribofuranose **59** ausgehend von der 1,2-O-Isopropyliden-5'-O-benzoylxylofuranose **61**.

Für die Acetalspaltung wurden katalytische Mengen Iod eingesetzt und die Reaktion in Methanol bei 70 °C für 4 h gerührt. Die 1-O-Methylxylofuranose **62** wurde in einer Ausbeute von 86 % erhalten. Die Reagenzkombination aus Methanol und Iod wurde als hocheffiziente Methode zur Spaltung von Acetal- und Dithioacetal-Schutzgruppen in der Kohlenhydrat-chemie beschrieben. Isopropylidenacetale können unter Verwendung dieser Reagenzien bei Raumtemperatur oder durch temporäres Erhitzen gespalten werden. Bei der Reaktion zur Spaltung von Acetalen kommt es zunächst zur Komplexbildung einer Iodspezies mit einem Sauerstoffatom und die anschließende Reaktion mit dem Methanol führt zur Freisetzung der methylierten Ribose.<sup>[136]</sup> Die 1-O-Methylxylofuranose **62** wurde beim ersten Syntheseversuch nach einem Protokoll von SIVETS *et al.* zur 3'-F-Ribofuranose **59** umgesetzt. Es wurde wie in der Vorschrift angegeben das anomere Gemisch der Verbindung **62** in Dichlormethan gelöst und im Anschluss langsam sechs Äquivalente DAST zugegeben. Es wurde die Reaktion wie in der Vorschrift angegeben über Nacht gerührt

und nach 20 Stunden konnte dünn-schichtchromatographisch der vollständige Umsatz beobachtet werden. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass wie auch in Arbeiten von SIVETS *et al.* beschrieben nicht nur die fluoriierte Verbindung **59**, sondern auch weitere Nebenprodukte gebildet wurden. Es konnte die fluoriierte Verbindung **59** lediglich in einer Ausbeute von 27 % erhalten werden. Diese Ausbeute ist deutlich geringer als in der Literatur angegeben.<sup>[134,135]</sup> Es konnte eine Ausbeutesteigerung erreicht werden, nachdem die Zugabe des DAST-Reagenz nicht, wie in der Literatur beschrieben bei Raumtemperatur, sondern bei -78 °C erfolgte. Im Anschluss wurde die Reaktion für 22 Stunden gerührt, wobei sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Die Zugabe sollte bei -78 °C erfolgen, um die Bildung von möglichen Nebenprodukten zu minimieren. Es konnte eine Ausbeutesteigerung von 13 % beobachtet werden. Zusätzlich zu der Temperaturänderung wurde eine weitere Änderung der Synthesebedingung vorgenommen. Statt mit den in der Literatur<sup>[134,135]</sup> beschriebenen sechs Äquivalenten, wurde die Fluorierung mit nur 1.5 Äquivalenten DAST durchgeführt, da durch die Verwendung von mehr als 1.5 Äquivalenten in dieser Arbeit keine erhöhte Produktbildung beobachtet werden konnte. Es konnte die fluoriierte Verbindung **59** nach dem Zutropfen von 1.5 Äquivalenten DAST bei -78 °C in einer Ausbeute von 43 % erhalten werden. Durch die angepassten Synthesebedingungen konnte das Arbeiten, mit einer erhöhten Menge an DAST vermieden werden, was nicht nur aus Kosten-Nutzen-Gründen sinnvoll war, sondern auch aufgrund der Tatsache, dass der Umgang mit DAST ein besonderes Risiko darstellt.

Für die bevorstehende SILYL-HILBERT-JOHNSON-Glykosylierung sollten vorerst Acetylgruppen an der 1- und 2-Position eingeführt werden, um das gewünschte  $\beta$ -konfigurierte Produkt **68** zu erhalten. Die Reaktionsbedingungen für den Acetylierungsschritt sind in Abbildung 6.10 dargestellt.<sup>[126]</sup>



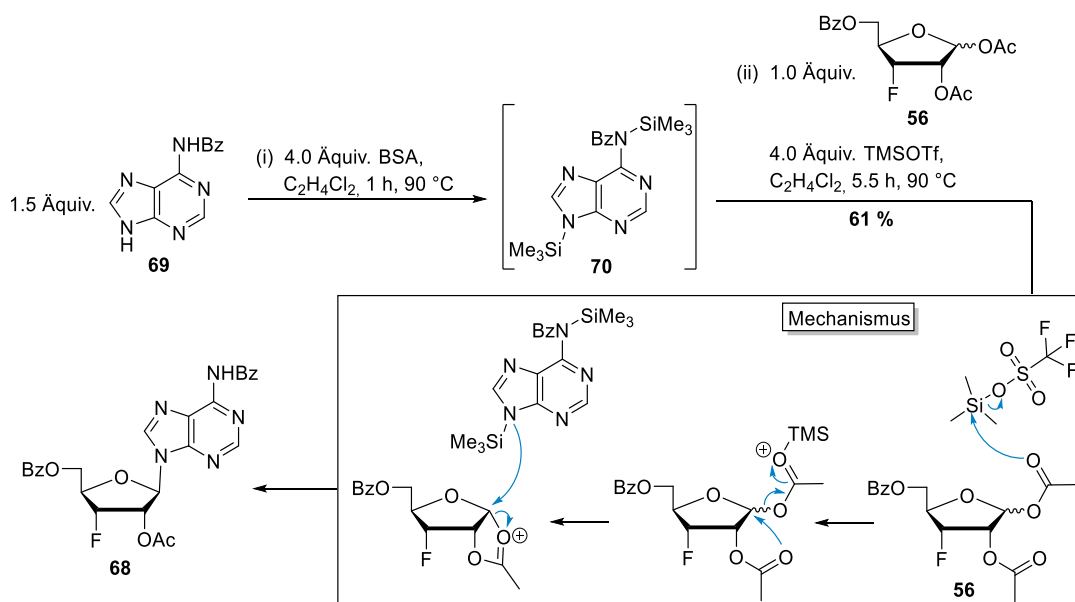
**Abb. 6.10:** Synthese von 1,2-O-Diacetyl-3'-fluor-5'-O-benzylribofuranose **56**.

Die Einführung der Acylestergruppen und der damit verbundene Austausch der Methylether-Gruppe durch die Acetylgruppe erfolgte durch das Lösen der 1-O-Methyl-Verbindung **59** in Essigsäure und anschließender Zugabe von Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung für 19 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die acetylierte Verbindung **56** konnte als Gemisch aus beiden Anomeren in einer Ausbeute von 93 % erhalten werden. Die beiden Anomere wurden im

Zuge der erfolgten Säulenchromatographie nicht voneinander getrennt, da dies für den darauffolgenden Schritt der *N*-Glykosylierung nicht erforderlich war.

Die *N*-Glykosylierung der acetylierten Ribose **56** kann nach unterschiedlichen Methoden realisiert werden. Die SILYL-HILBERT-JOHNSON-Methode (oder VORBRÜGGEN-Methode) ist die am häufigsten verwendete Methode für Nucleoside. Diese beruht auf der Kupplung von *O,N*-silylierten Heterozyklen, insbesondere Nucleobasen und Zuckeracetate, katalysiert durch Lewis-Säuren.<sup>[137]</sup>

Die *N*-Glykosylierung des geschützten 3-F-Derivats **56** erfolgte in Anlehnung an die Vorschriften von VORBRÜGGEN *et al.* und KUMAR *et al.*. Die verwendeten Reaktionsbedingungen sind in Abbildung 6.11 dargestellt.<sup>[132,138]</sup>



**Abb. 6.11:** Synthese des geschützten 3'-Fluoradenosins **68** sowie die schematische Darstellung des Mechanismus der *N*-Glykosylierung (im Kasten).

Die SILYL-HILBERT-JOHNSON-Reaktion ist eine Kombination aus zwei nacheinander ablaufenden Reaktionsschritten, die als *One Pot* Nucleosid-Synthese erfolgen.

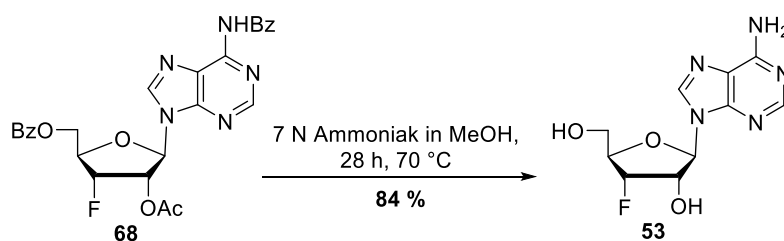
Für die Knüpfung der *N*-glykosidischen Bindung (1. Reaktionsschritt) zwischen der acetylierten Ribose **56** und dem *N*<sup>6</sup>-Benzoyladenin **69** wurde die geschützte Base **69** in Dichlorethan suspendiert und Bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA) zugetropft. Diese Suspension wurde für eine Stunde bei 90 °C gerührt, wobei sich eine Lösung bildete.<sup>[132,138]</sup> Bei diesem ersten Syntheseschritt erfolgte die Aktivierung der Base **69** durch die Zugabe des BSA. Das BSA überführt die polare, oft schlecht lösliche Base in ihr lipophiles, in organischen Lösungsmitteln leicht lösliches silyliertes-Derivat **70**. Aufgrund der elektronischen Eigenschaften des Siliciums sind die silylierten-Derivate bessere Nucleophile als ihre entsprechenden Basen.<sup>[139]</sup> Im zweiten Teilschritt der *N*-Glykosylierung wurde eine

Lösung aus der Ribose **56** in Dichlorethan bei Raumtemperatur zugetropft. Im Anschluss wurde unter Eiskühlung das Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft. Die Reaktion wurde für 5.5 Stunden zum Rückfluss erhitzt bis dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des Zuckers **56** beobachtet wurde. Nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte das  $\beta$ -Anomer **68** in einer Ausbeute von 61 % erhalten werden. Die Konfiguration des anomeren Kohlenstoffs konnte mit Hilfe eines NOESY-NMR-Spektrums sowie über die Kopplungskonstante im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bestätigt werden.

Das bei der Reaktion eingesetzte TMSOTf dient als Lewis-Säure und aktiviert den Zucker **56**, der entsprechende Mechanismus ist im Kasten in Abbildung 6.11 dargestellt. Das TMSOTf polarisiert die Acetylgruppe an der 1-Position des Zuckers **56**. Dies ermöglicht den intramolekularen nucleophilen Angriff vom Sauerstoff der Acetylgruppe an der 2-Position des Zuckers (die Nachbargruppe) am 1-Kohlenstoffatom. Es kommt zu einem Ringschluss und zur Ausbildung des 1,2-cis-Oxonium-Fünfrings, welcher sich in  $\alpha$ -Stellung zur Ribose **56** befindet. Dadurch bildet sich stereoselektiv die  $\beta$ -glykosidische Bindung, weil der nucleophile Angriff der silylierten Base nun nur noch von der sterisch weniger gehinderten Seite erfolgen kann. Dieser Effekt nennt sich Nachbargruppeneffekt und ist der Grund, warum im Reaktionsschritt vor der *N*-Glykosylierung die Acetylgruppen in 1- und 2-Position am Zucker **56** eingeführt wurden.<sup>[138,139]</sup>

Es wurde bei dieser Reaktion, anstelle des für die VORBRÜGGEN-Glykosylierung gängigen Lösungsmittels Acetonitril, Dichlorethan eingesetzt.<sup>[132,138]</sup> Das wesentlich weniger polare Dichlorethan begünstigt eine Komplexbildung zwischen der silylierten Base und dem als Lewis-Säure eingesetzten TMSOTf, sodass die während der Reaktion unerwünschten kinetisch kontrollierten *N*<sup>3</sup>- und *N*<sup>7</sup>-Adenin-Nucleoside, die sich als Nebenprodukte bei dieser Reaktion bilden können, zu den thermodynamisch kontrollierten und gewünschten *N*<sup>9</sup>-Adenin-Nucleosiden umgelagert werden können. Dichlorethan ist aus diesem Grund das bevorzugte Lösungsmittel für die Synthese von Purinnucleosiden.<sup>[138,139]</sup>

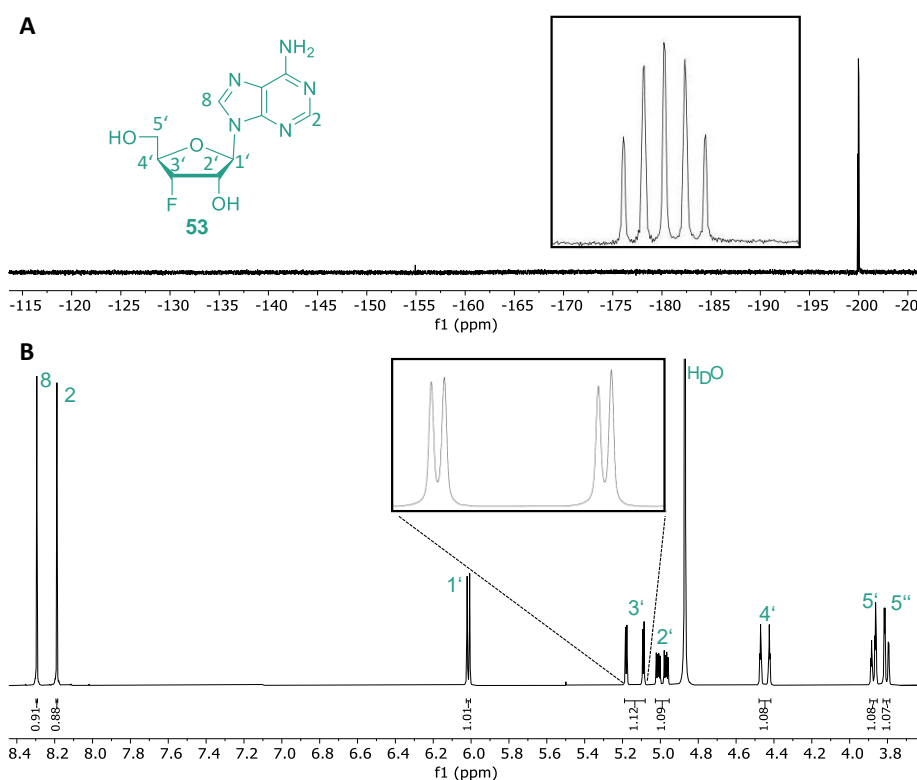
Im Anschluss sollten alle drei Schutzgruppen in einem Schritt nach den in Abbildung 6.12 dargestellten Reaktionsbedingungen unter der Verwendung von 7 N Ammoniak in Methanol entfernt werden.<sup>[131]</sup>



**Abb. 6.12:** Synthese des 3'-F-Adenosins **53**.

Für die basische Spaltung der Estergruppen (Acetyl- sowie Benzoyl-Gruppen) wurde das geschützte Adenosin **68** in 7 N Ammoniak in Methanol gelöst und das Reaktionsgemisch bei 70 °C für 28 Stunden in einem Druckrohr gerührt. Nachdem die flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt wurden, wurde nach säulenchromatographischer Reinigung das 3'-F-Adenosin **53** in einer Ausbeute von 84 % erhalten. Dünnschichtchromatographisch konnte während der Reaktion die Bildung eines polareren Nebenprodukts beobachtet werden, welches jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht identifiziert wurde, was aber die erzielte Ausbeute von 84 % trotz vollständigem Umsatz während der Reaktion erklärt.

In Abbildung 6.13 ist das  $^{19}\text{F}$ - sowie das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des 3'-F-Adenosins **53** dargestellt.



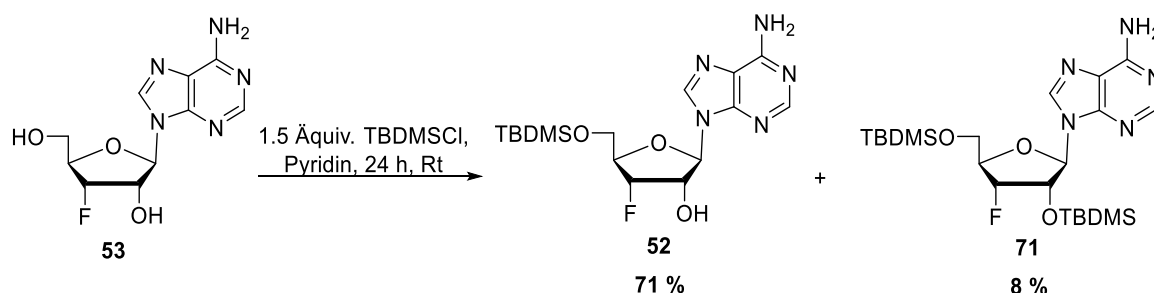
**Abb. 6.13:**  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum des 3'-F-Adenosins **53** nach erfolgreicher Entschützung (600 MHz, 25 °C, MeOD) (A) und das zugehörige  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (600 MHz, 25 °C, MeOD) (B).

Im  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum ist das für die Verbindung **53** zu erwartende Signal zu erkennen, was mit dem Kopplungsverhalten des Fluors übereinstimmt. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum sind alle charakteristischen Signale des 3'-F-Adenosins **53** zu erkennen. Zudem sind im  $^1\text{H}$ -NMR stark aufgespaltene Signale der 1'- bis 4'-Protonen, mit den für fluoridierte Zucker charakteristischen Kopplungskonstanten zu erkennen, wie beispielsweise die große charakteristische  $^2J_{\text{H,F}}$ -Kopplungskonstante von 54.5 ppm.

Das 3'-F-Adenosin **53** konnte in einer Gesamtausbeute von 16 % über sechs Schritte, ausgehend von der kommerziell erhältlichen 1,2-*O*-Isopropyliden-geschützten Xylose **66**, erhalten werden. Problematisch bei dieser Syntheseroute ist jedoch der Fluorierungsschritt selbst. Nach mehrfacher Wiederholung dieser Syntheseroute konnte festgestellt werden, dass der Fluorierungsschritt nicht einwandfrei reproduzierbar war. Es traten große Ausbeuteschwankungen auf, deren Ursache unbekannt blieb. Inzwischen ist dieses Derivat **53** jedoch kommerziell erhältlich.

### 6.1.2 Synthese des 2'-(Bis-*O*-(4-heptanoyloxybenzyl))-(3'-desoxy-3'-fluoradenosin)-2',5'-diphosphats

Wie im retrosynthetischen Schema (Abschnitt 6.1, Abb. 6.4) dargestellt und beschrieben, sollte für die Synthese des Diphosphats **49** vorerst die 2'-Position des Zuckers monophosphoryliert werden. Bevor die 2'-Phosphorylierung erfolgreich durchgeführt werden kann, sollte das 3'-F-Adenosin **53** vorerst an der 5'-Position orthogonal geschützt werden. Als geeignete Schutzgruppe für diese orthogonale Synthesestrategie wurde die *tert*-Butyldimethylsilylgruppe (TBDMS) gewählt.

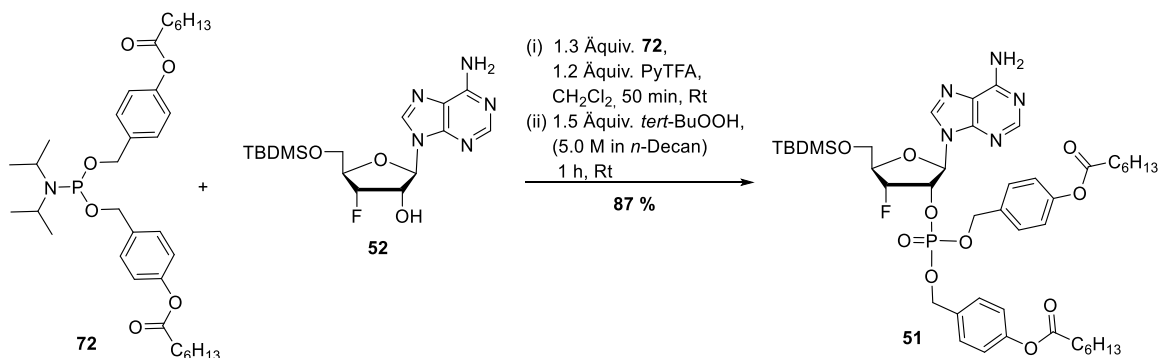


**Abb. 6.14:** Synthese des 5'-*O*-TBDMS-3'-Fluoradenosins **52**.

Die TBDMS-Gruppe sollte in Anlehnung an die Vorschriften von PAHNKE und GOLLNEST durch den Einsatz von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMS-Cl) in Pyridin aufgrund unterschiedlicher Reaktivitäten der freien Hydroxygruppen in primärer 5'-Position und sekundärer 2'-Position selektiv an der 5'-Position eingeführt werden.<sup>[87,140]</sup> Das Reaktionsgemisch wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde dünnschichtchromatographisch zwar kein vollständiger Umsatz beobachtet, die Reaktion wurde dennoch nach den angegebenen 24 Stunden beendet, da sich mit der Zeit die Bildung des doppelt TBDMS-geschützten Nebenprodukts **71** bemerkbar machte. Es wurde das doppelt TBDMS-geschützte Nebenprodukt **71** in einer Ausbeute von 8 % erhalten. Das gewünschte Produkt **52** konnte säulenchromatographisch vom Nebenprodukt getrennt und in einer Ausbeute von 71 % isoliert werden.

Die Synthese des symmetrischen Amidits **72** erfolgte nach einem Protokoll von GOLLNEST.<sup>[87]</sup> Der für die Synthese des Amidits **72** verwendete Ester konnte mit einer Ausbeute von 87 % isoliert werden, was die in der Literatur angegebene Ausbeute von GOLLNEST deutlich übertrifft.<sup>[87]</sup> Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[87]</sup> Das symmetrische Amidit **72** konnte in einer Ausbeute von 92 % erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[87]</sup>

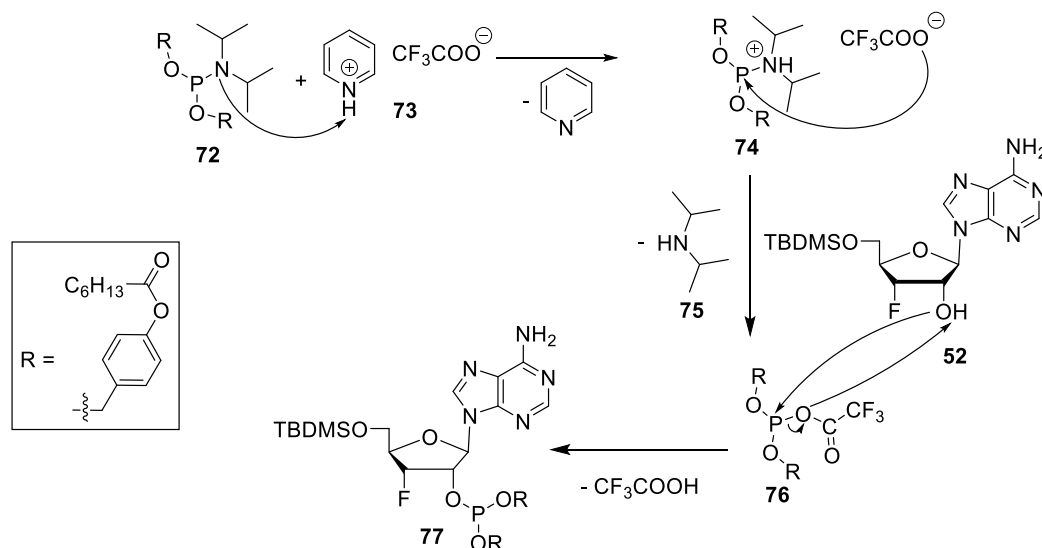
Nach der Synthese des 5'-silylierten Adenosins **52** und der erfolgreichen Synthese des symmetrischen Amidits **72** sollte die Kupplung der beiden Bausteine, wie in Abbildung 6.15 dargestellt, erfolgen.<sup>[103,141]</sup>



**Abb. 6.15:** Synthese des symmetrisch geschützten 2'-Monophosphats **51**.

Die Phosphoramidit-Kupplung mit anschließender Oxidation sollte nach einem von WEINSCHENK optimierten und im Anschluss leicht modifizierten Protokoll von JESCHIK erfolgen.<sup>[103,141]</sup> Anstelle des von Weinschenk verwendeten 4,5-Dicyanoimidazols (DCI) wurde als Aktivator für diese Reaktion das Pyridiniumtrifluoracetat (PyTFA) verwendet, welches in Arbeiten von JESCHIK bei der Darstellung von *caged* cAMP sehr gute Ergebnisse lieferte.<sup>[103,142]</sup> Das Pyridiniumtrifluoracetat wurde in der Literatur bereits als Alternative zum standardmäßig genutzten DCI beschrieben und erfolgreich zur Darstellung von Oligonucleotiden eingesetzt.<sup>[142]</sup>

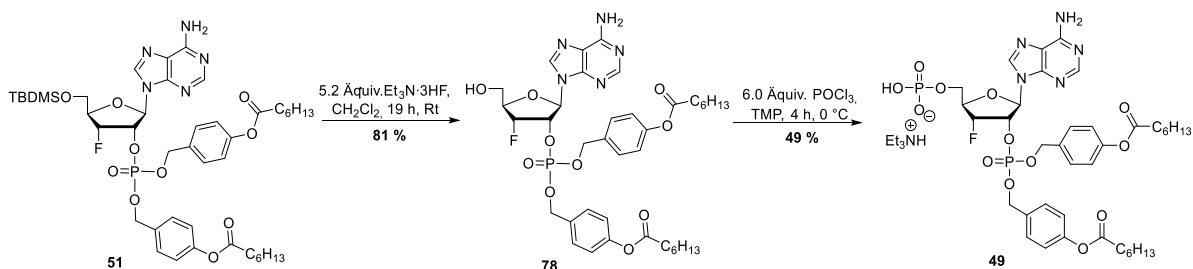
Zur Darstellung des Monophosphats **51** wurden das geschützte 3'-Fluoradenosin **52** und das Amidit **72** in Dichlormethan suspendiert. Anschließend wurde das Pyridiniumtrifluoracetat als Aktivator zugegeben. Da nach 50 Minuten dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, erfolgte anschließend die Oxidation der im ersten Schritt gebildeten Phosphor(III)-Spezies, indem *tert*-Butylhydroperoxid zugetropft wurde. Das gewünschte Produkt **51** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 77 % erhalten werden.



**Abb. 6.16:** Darstellung des von SANGHVI *et al.* postulierten Mechanismus der *in situ* Aktivierung zur Darstellung des Phosphits **77** unter Verwendung von Pyridiniumtrifluoroacetat **73** als Aktivator.<sup>[142]</sup>

Wie in Abbildung 6.16 mechanistisch dargestellt protoniert das Pyridiniumtrifluoroacetat **73** das Phosphoramidit **72**, wobei Pyridin frei wird. Anschließend erfolgt der nucleophile Angriff des Trifluoroacetats am Phosphoratom des positiv geladenen Intermediats **74** unter Freisetzung von Diisopropylamin **75**, was zur Bildung der aktivierten Zwischenstufe **76** führte. Diese reagierte anschließend mit der 2'-Hydroxygruppe des Nucleosids **52** zum Phosphit **77**. Dieses wurde im darauffolgenden Oxidationsschritt zum Phosphattriestern **51** umgesetzt.

Nachdem das silylierte Adenosin **52** erfolgreich an der 2'-Position phosphoryliert wurde, sollte im Anschluss die Silylschutzgruppe abgespalten werden, um im darauffolgenden Syntheseschritt das 2'-Monophosphat **78** an der 5'-Hydroxygruppe nach der Methode von YOSHIKAWA *et al.* zu phosphorylieren (Abb. 6.17).<sup>[143,144]</sup> Diese Methode ermöglicht eine Phosphorylierung unter milden Bedingungen.<sup>[143]</sup>



**Abb. 6.17:** Synthese des desilylierten Derivats **78** gefolgt von der Darstellung des 2',5'-Diphosphats **49** über die YOSHIKAWA-Reaktion.

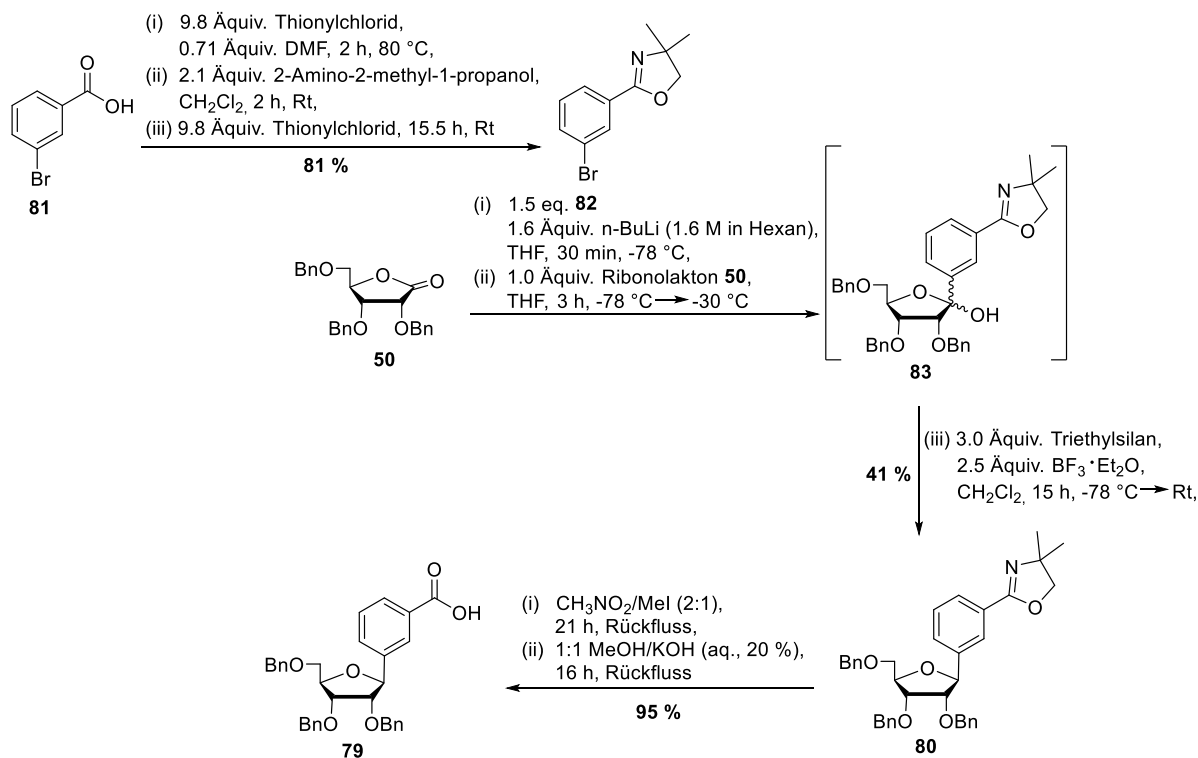
Für die Desilylierung wurde die Verbindung **51** mit einem Überschuss an Triethylamin-Trihydrofluorid versetzt. Der Überschuss des Fluorierungsreagenzes wurde, nachdem die Reaktion für 19 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde, durch die Zugabe von

Silicagel gequenchet. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **78** in einer Ausbeute von 81 % erhalten werden. Im Anschluss erfolgte die Phosphorylierung der 5'-Hydroxygruppe des 2'-Monophosphats **78** bei der dieses in Trimethylphosphat (TMP) gelöst und der Reaktionsansatz auf 0 °C gekühlt wurde. Anschließend wurde Phosphorylchlorid zugetropft und der Reaktionsansatz für vier Stunden bei 0 °C gerührt, wobei der Verlauf der Reaktion kontinuierlich via RP-HPLC verfolgt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde zum Beenden der Reaktion zu einer eisgekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer-Lösung gegeben. Nach mehrfacher RP-18-säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt **49** in einer Ausbeute von 49 % isoliert werden. Die moderate Ausbeute ist auf das Quenchen und die mehrfache chromatographische Reinigung zurückzuführen, denn es konnte nach jedem Reinigungsschritt erneut die demaskierte Verbindung isoliert werden, was darauf hindeutet, dass sich während des Reinigungsprozesses die lipophilen Masken teilweise abzuspalten schienen.

Insgesamt konnte das 3'-F-Monophosphat **49** in einer Ausbeute von 4 % über zehn Schritte ausgehend von der kommerziell erhältlichen 1,2-O-Isopropyliden-geschützten Xylose **66** erhalten werden.

### 6.1.3 Synthese des maskierten Benzoessäureester-Monophosphats

Die Synthese des Benzoessäureester-Monophosphats **48** erfolgte zunächst nach einem Protokoll von DEKIERT.<sup>[15]</sup> Die Synthese der benzylierten Carbonsäure **79** erfolgte in Arbeiten von DEKIERT nach einer Vorschrift von KROHN *et al.* (Abb. 6.18).<sup>[133]</sup>



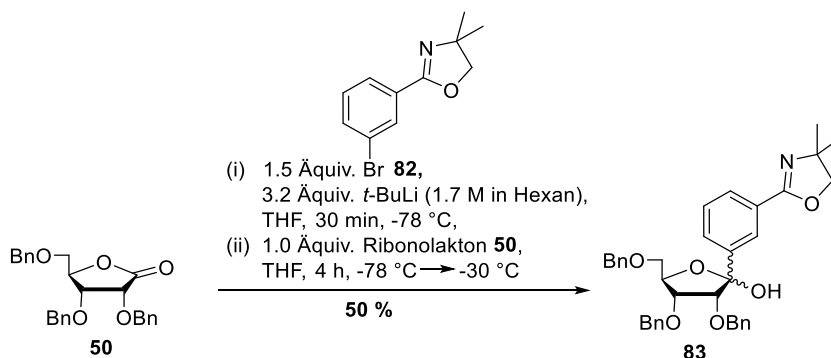
**Abb. 6.18:** Synthese des benzyloxygeschützten C-Nucleosids **79**.

Für die C-Glykosylierung über das kommerziell erhältliche  $\gamma$ -Ribonolacton **50** zur Synthese von Verbindung **80** werden Organolithiumverbindungen eingesetzt. Doch bevor die Brombenzoessäure **81** für die C-Glykosylierung eingesetzt werden kann, muss die Carbonsäure mit einer geeigneten Schutzgruppe versehen werden, die stabil gegenüber der verwendeten Organolithiumverbindung ist. Es wurde dafür wie in Arbeiten von KROHN *et al.* der Oxazolin-Ring eingeführt.<sup>[133]</sup> Oxazoline sind für ihre Beständigkeit gegenüber vieler metallorganischer Verbindungen bekannt.<sup>[145]</sup> Zur Einführung des Oxazolin-Rings wurde die Benzoessäure **81** in Thionylchlorid mit katalytischer Menge abs. DMF zwei Stunden bei 80 °C erhitzt und zum Säurechlorid umgesetzt. Der erhaltene Feststoff wurde ohne weitere Reinigung in abs. Dichlormethan gelöst und eine Lösung aus 2-Amino-2-methyl-1-propanol in abs. Dichlormethan bei 0 °C zugegeben. In diesem Schritt reagierte das Säurechlorid mit dem Amin zu einem Amid. Nach zweistündigem Rühren wurde der entstandene Rückstand ohne weitere Reinigung in Thionylchlorid gelöst und 15.5 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei es zum Ringschluss und somit zur Ausbildung des Oxazolin-Rings kam. Nach anschließender chromatographischer Reinigung wurde das oxazolingeschützte Produkt **82**

in einer Ausbeute von 81 % erhalten. Die oxazolingeschützte Brombenzoesäure **82** wurde über eine C-glykosidische Bindung mit dem Ribonolacton **50** verknüpft, wobei die  $\beta$ -D-Ribofuranose **80** erhalten werden sollte. Zunächst wurde das Bromid **82** für eine Stunde bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit *n*-Butyllithium in THF umgesetzt, um die lithiierte Verbindung zu erhalten, die anschließend bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit dem Lacton **50** umgesetzt wurde. Nach drei Stunden wurde wässrig aufgearbeitet und das Rohprodukt in Dichlormethan gelöst. Bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  wurden Triethylsilan und Bortrifluoridetherat zugetropft und die Reaktionslösung wurde für weitere 15 Stunden gerührt. Nach der Reinigung wurde das geschützte C-Nucleosid **80** in einer Ausbeute von 41 % isoliert. Die Ausbeute ist deutlich geringer als die in der Literatur angegebene Ausbeute von 98 %.<sup>[133]</sup> Da trotz mehrfacher Wiederholung dieses Syntheseschrittes die Ausbeute nicht gesteigert werden konnte und zudem eine deutliche Schwankung der Ausbeute in dieser Arbeit festgestellt wurde, sollte vorerst die Synthese des bisher nicht isolierten Zwischenprodukts **83** erfolgen, um festzustellen, welcher der beiden Reaktionsschritte der ausbeutelimittierende Schritt ist und an welchem Teilschritt eine Optimierung der Synthesebedingungen zu erfolgen hat.

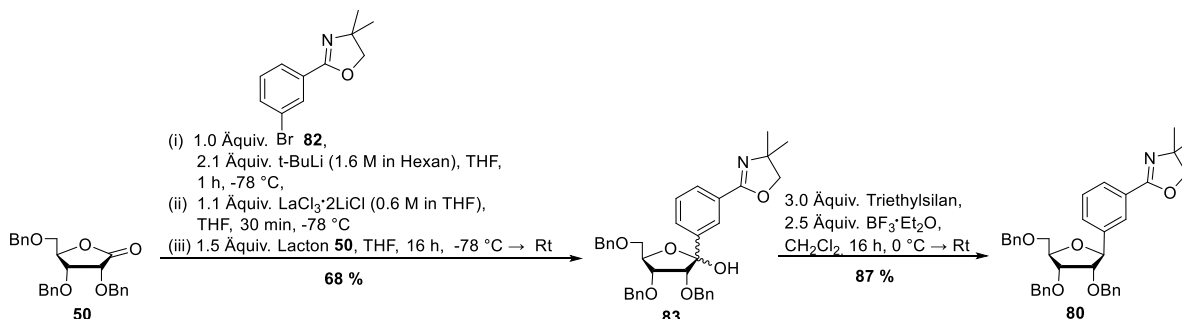
Dünnschichtchromatographisch konnte beobachtet werden, dass beim ersten Syntheseschritt zur Darstellung des Zwischenprodukts **83** die Bildung weiterer Zwischenprodukte erfolgte, was bei dem zweiten Teilschritt nicht beobachtet werden konnte. Daher wurde zunächst davon ausgegangen, dass es sich beim ersten Schritt um den ausbeutelimittierenden Schritt handelt. Besonders hervorzuheben ist an dieser Stelle, dass nach der erfolgten Synthese über die zwei Schritte die säulenchromatographische Reinigung sehr aufwendig war. Nicht nur weil das Produkt von den vielen entstandenen Nebenprodukten getrennt werden musste, sondern auch aus dem Grund, dass nach dem zweiten Teilschritt das aromatische Produkt **80** mit einem aromatischen Nebenprodukt koeluiert. Zusätzlich zu der Tatsache, dass die säulenchromatographische Reinigung mehrfach erfolgen musste, konnte auf Grund des *pi-stackings* der beiden aromatischen Verbindungen eine vollständige Trennung und Isolierung des gewünschten Produkts ausschließlich durch Zugabe von Toluol im Laufmittelgemisch erreicht werden.

Es erfolgte ein weiterer Syntheseversuch, bei dem vorerst der Fokus auf die Synthese des Lactols **83** gelegt wurde. Die Synthese des Lactols **83** erfolgte nach den in der Abbildung 6.19 dargestellten Synthesebedingungen.



**Abb. 6.19:** Synthese des benzylgeschützten Lactols **83**, wobei das Produkt **83** als Gemisch aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomeren isoliert wurde.

Anstelle des *n*-Butyllithiums wurde bei diesem Reaktionsversuch das reaktivere *tert*-Butyllithium eingesetzt. Im Gegensatz zu den vorherigen Syntheseversuchen wurde hier jedoch das gebildete Lactol **83** nicht direkt ohne weitere Reinigung für den zweiten Syntheseschritt eingesetzt. Es wurde wässrig aufgearbeitet und säulenchromatographisch gereinigt. Das Lactol **83**, konnte als Gemisch der beiden Anomere, in einer Ausbeute von 50 % erhalten werden. Die Trennung des Anomerengemisches ist nicht erforderlich für den zweiten Syntheseschritt. Aufgrund der geringen Ausbeute, durch die Bildung der Nebenprodukte und der aufwändigen säulenchromatographischen Reinigung mit Toluol, wie bereits im vorherigen Absatz beschrieben, sollte eine Optimierung dieses Syntheseschrittes erfolgen. Doch nicht nur die Ausbeute, auch die aufwendige säulenchromatographische Reinigung war Grund genug, die Reaktionsbedingungen zu optimieren. Im Gegensatz zum Protokoll von KROHN *et al.*<sup>[133]</sup> sollte ein Optimierungsversuch der Reaktionsbedingungen durch die Verwendung einer Lanthan(III)-chlorid-bis(lithiumchlorid)-Lösung in Anlehnung an ein Protokoll von BUTKEVICH erfolgen (Abb. 6.20).<sup>[146]</sup> BUTKEVICH beschreibt, dass Alkyl- und Aryllanthan-Reagenzien vom Typ  $\text{RMX}_2$  eine hohe Nucleophilie gegenüber Carbonylgruppen aufweisen.<sup>[146]</sup>



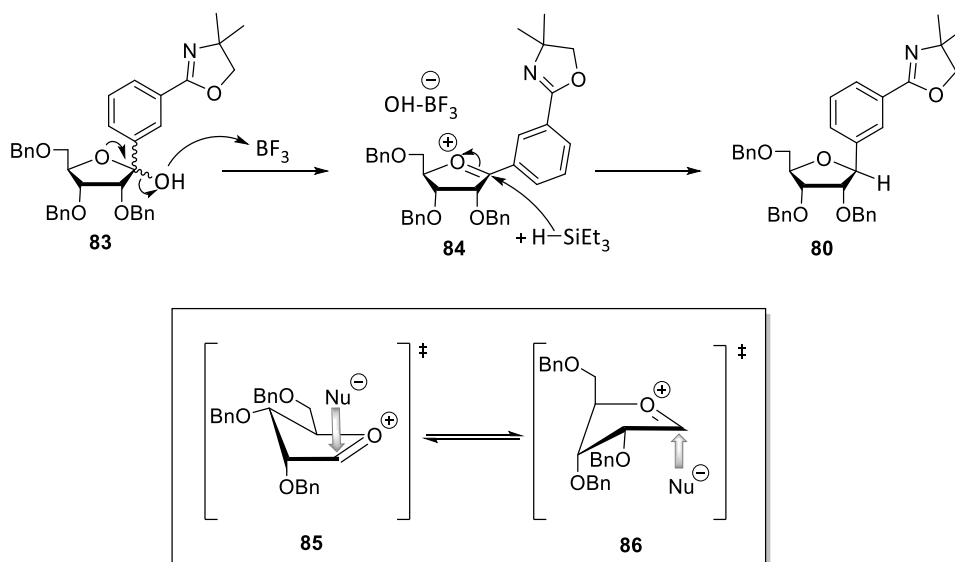
**Abb. 6.20:** Synthese des C-Nucleosids **80** aus dem Lactol **83**, welches zuvor aus dem Lacton **50** und dem Bromid **82** hergestellt wurde.

Im ersten Schritt wurde das Bromid **82** mit *tert*-Butyllithium versetzt und für eine Stunde bei -78 °C in THF gerührt, um einen Metall-Halogen austausch zu ermöglichen. Danach

wurde eine Lanthan(III)-chlorid-bis(lithiumchlorid)-Komplexlösung zugegeben und für 30 Minuten gerührt. Im Anschluss wurde eine Lösung des Lactons **50** in THF zugegeben und der Reaktionsansatz für 16 Stunden gerührt, wobei sich dieser auf Raumtemperatur erwärmte. Das Lactol **83** wurde in einer Ausbeute von 68 % erhalten. Das bedeutet, dass für die Synthese des Lactols **83** eine Ausbeutesteigerung beobachtet werden konnte, nachdem die Reaktionsbedingungen leicht modifiziert wurden. Zudem konnte dünn-schicht-chromatographisch nicht die Bildung diverser Nebenprodukte beobachtet werden, wie es bei der Synthese mit den vorherigen Synthesebedingungen der Fall war. Dadurch konnte die Reinigung des Lactols **83** wesentlich erleichtert werden. Angeregt von Berichten über die Verwendung von Lanthanid(III)-Salzen zur Verbesserung schwieriger Grignard-Additionen an Keton-Substraten wurde auch die Wirkung von  $\text{LaCl}_3 \cdot 2\text{LiCl}$  als Additiv bereits bei der Synthese von Remdesivir von STEVENS *et al.* untersucht.<sup>[147]</sup> Auch in dieser Arbeit konnte festgestellt werden, dass die Zugabe von einer  $\text{LaCl}_3 \cdot 2\text{LiCl}$ -Komplexlösung den Umsatz und das Reinheitsprofil der Reaktion verbesserte.<sup>[147]</sup>

Die Desoxygenierung des Lactols **83** erfolgte im Anschluss analog zu den bereits dargestellten Reaktionsbedingungen nach KROHN *et al.* (Abb. 6.20). Das  $\beta$ -C-Nucleosid **80** konnte in einer Ausbeute von 87 % erhalten werden.

Die selektive Bildung der  $\beta$ -C-glykosidischen Bindung ist mechanistisch in Abbildung 6.21 dargestellt.

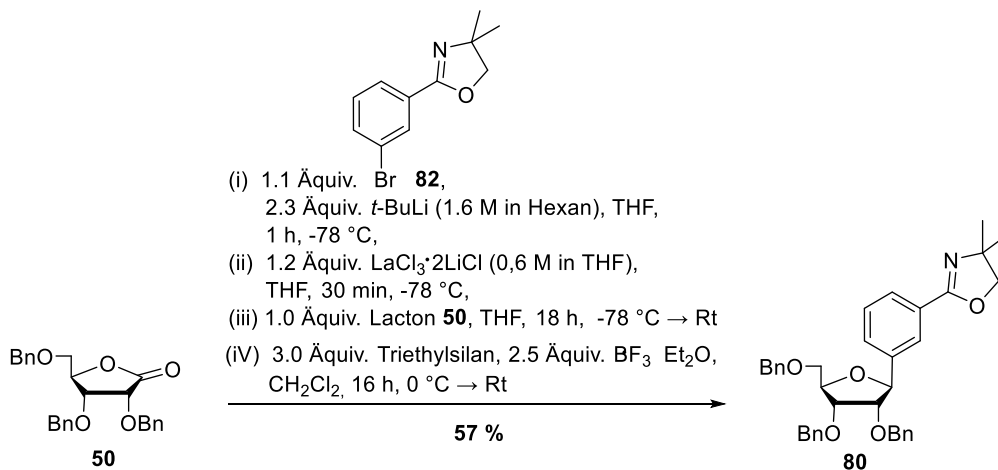


**Abb. 6.21:** Mechanismus der  $\beta$ -selektiven Dehydroxylierung des Lactols **83**.

Die Reduktion des Lactols **83** erfolgt mit Hilfe der Lewis-Säure Bortrifluorid und dem Triethylsilan, welches als Hydriddonor dient, wobei das  $\beta$ -C-Glykosid **80** selektiv gebildet wird. Die Hydroxygruppe am anomeren Kohlenstoffatom wird durch die Lewis-Säure abgespalten, woraufhin das Oxocarbeniumion **84** gebildet wird, welches in den beiden

Konformationen **85** und **86** vorliegen kann (Abb. 6.21, im Kasten). Da es sich um einen Heteroatom substituierten Fünfring handelt, stehen die Alkoxygruppen bevorzugt in pseudoaxialer Richtung, da so die attraktiven elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen dem Carbokation und den elektronenziehenden Substituenten maximal sind. Den größten Einfluss auf die Stereochemie hat der C-3-Benzylrest. Dieser nimmt bevorzugt die pseudoaxiale Ausrichtung ein, wie es im Übergangszustand **86** dargestellt ist. Es erfolgt bevorzugt der Angriff von der stereoelektronisch bevorzugten Innenseite. Hier stehen der Wasserstoff in 1-Position und der Benzyloxyrest in 3-Position cis zueinander.<sup>[148]</sup> Als Produkt wird die substituierte  $\beta$ -D-Ribofuranose **80** erhalten.

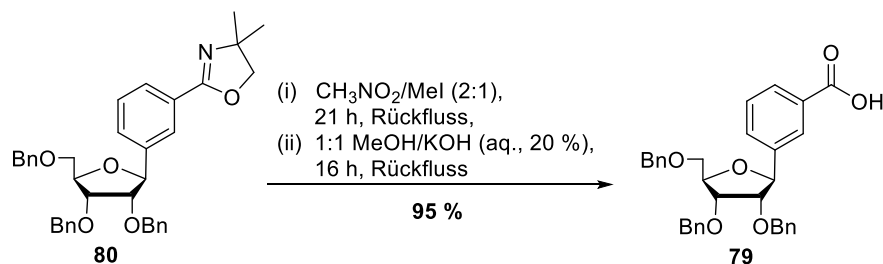
Im Anschluss erfolgte eine weitere Synthese zur Darstellung von Verbindung **80**, bei der wie zu Beginn das Lactol **83** als Rohprodukt nach der wässrigen Aufarbeitung ohne weitere Reinigung im Reduktionsschritt eingesetzt wurde. Es konnte das gewünschte Produkt **80** in einer Ausbeute von 57 % (Abb. 6.22) erhalten werden. Auch hier ist eine Ausbeuteerhöhung zu verzeichnen, wenn dieser Syntheseversuch mit dem aus Abb. 6.18 verglichen wird, bei dem das gewünschte Produkt **80** lediglich in einer Ausbeute von 41 % erhalten werden konnte. Wenn die säulenchromatographischen Reinigungen der beiden Reaktionsansätze verglichen werden ist auch hier klar hervorzuheben, dass bei dieser Synthese unter Verwendung der Lanthan(III)-chlorid-bis(lithiumchlorid)-Komplexlösung mit direkter Reduktion die Reinigung des gewünschten Produkts deutlich weniger aufwendig war.



**Abb. 6.22:** Erneute Kombination der beiden Syntheseschritte, nach erfolgreicher Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Synthese des C-Nucleosids **80** ausgehend vom Lacton **50**.

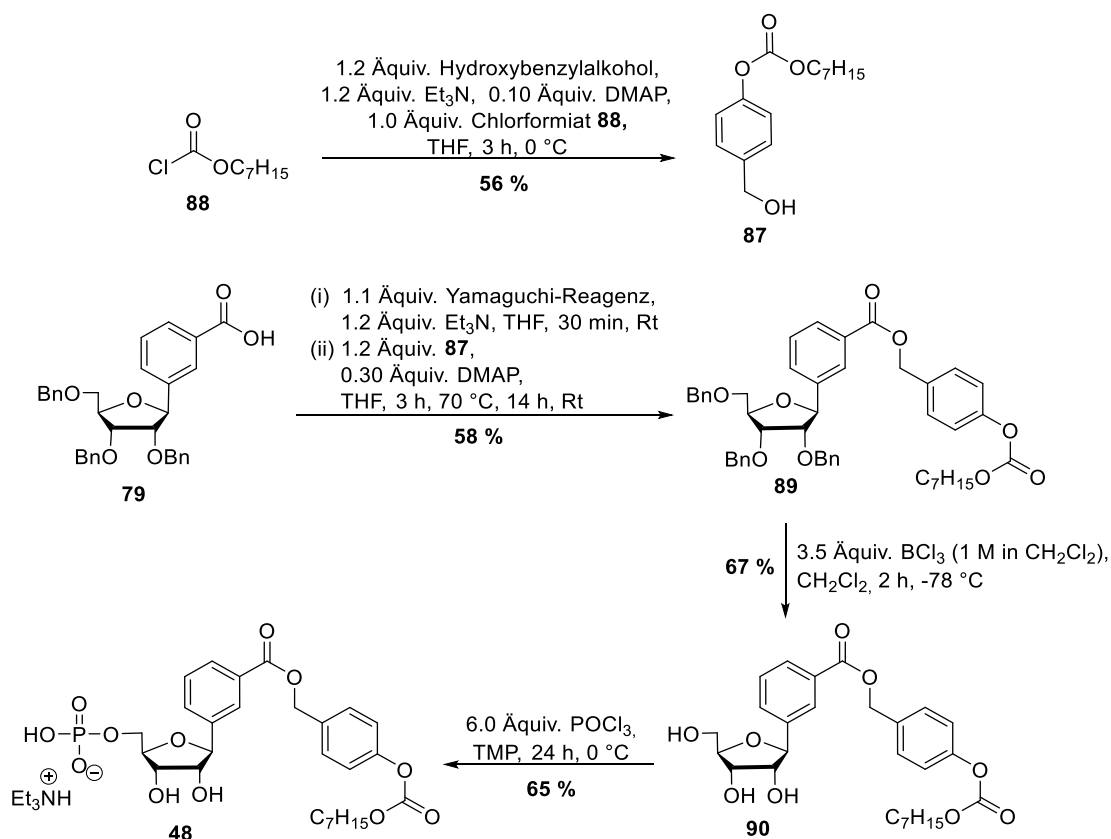
Wie in Abbildung 6.23 dargestellt, wurde die Oxazolinschutzgruppe zur Abspaltung unter Verwendung von Methyljodid methyliert. Das unter diesen Bedingungen entstandene Ammoniumsalz wurde anschließend unter basischen Bedingungen hydrolysiert und

abgespalten. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte die Carbonsäure **79** in einer sehr guten Ausbeute von 95 % erhalten werden.



**Abb. 6.23:** Entschützung der Verbindung **80** zur Darstellung der Carbonsäure **79**.

Für die Maskierung des oberen C-glykosidischen Bausteins **79** wurde die ACB-Maske eingesetzt. Da sich diese C<sub>7</sub>-ACB-Maske **87** als nützlich für DEKIERT erwiesen hat, wurde sie nach der Vorschrift von DEKIERT synthetisiert (Abb. 6.24) und im Anschluss für die lipophile Maskierung der Carbonsäure **79** eingesetzt.<sup>[15]</sup> Das Produkt **87** wurde in einer Ausbeute von 56 % erhalten. Diese lag leicht unter der in der Arbeit von DEKIERT angegebenen Ausbeute von 71 %.<sup>[15]</sup>



**Abb. 6.24:** Synthese des lipophil maskierten Monophosphats **48** ausgehend vom benzylgeschützten Nucleosid **79**.

Für die Kupplung der Carbonatmaske **87** an die Carbonsäure **79** wurde die Synthese nach den in DEKIERTS Arbeit beschriebenen Reaktionsbedingungen nach YAMAGUCHI durchgeführt, welche in Abbildung 6.24 dargestellt sind.<sup>[15,149]</sup> DEKIERT beschreibt, dass er keinen vollständigen Umsatz bei dieser Reaktion beobachten konnte.<sup>[15]</sup> Beim ersten Syntheseversuch konnte auch in diesen Arbeiten kein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Aus diesem Grund wurde der Reaktionsansatz beim zweiten Syntheseversuch für drei Stunden zum Rückfluss erhitzt, bevor dieser für weitere 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde. Es konnte das veresterte Produkt **89** in einer Ausbeute von 58 % erhalten werden. Es konnte im Vergleich zu den in Arbeiten von DEKIERT<sup>[15]</sup> angegebenen 39 % die Ausbeute leicht gesteigert werden, indem die Reaktion zum Rückfluss erhitzt wurde.

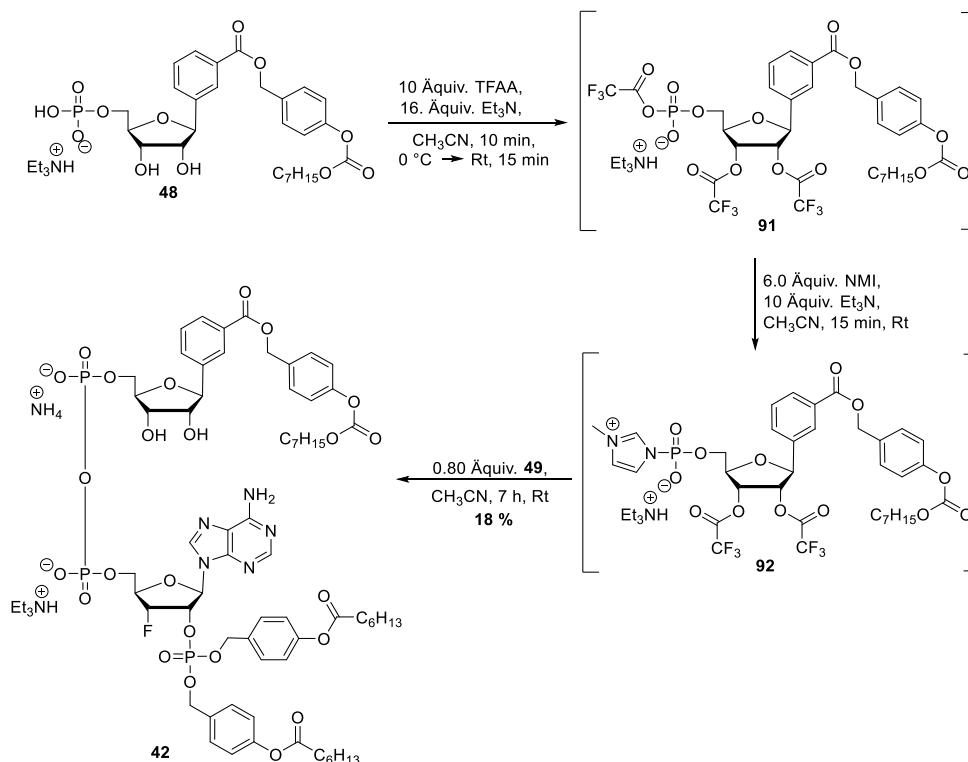
Da die übliche Methode zur Abspaltung der Benzylgruppen mit Hilfe eines Palladiumkatalysators unter Wasserstoffatmosphäre für Verbindung **89** aufgrund der zuvor erfolgten Veresterung der Carbonsäure **79** nicht möglich war, sollte die Debenzylierung unter Einsatz einer Bortrichlorid-Lösung erfolgen. Die Debenzylierung erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von KROHN *et al.*<sup>[133]</sup> Im Gegensatz zu der in diesem Protokoll eingesetzten Bortribromid-Lösung wurde in dieser Arbeit eine Bortrichlorid-Lösung verwendet. Die 1 M Bortrichlorid-Lösung wurde zur Reaktionslösung, bestehend aus der Verbindung **89** gelöst in Dichlormethan, bei -78 °C langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde bei -78 ° für zwei Stunden gerührt. Wichtig an dieser Stelle ist jedoch, auf welche Art und Weise die Reaktion beendet wird. Im Protokoll von KROHN *et al.* wird eine Lösung aus Dichlormethan und Methanol (1:1) verwendet.<sup>[133]</sup> Die Verwendung dieses Lösungsmittelgemisches würde jedoch zur Spaltung des Esters führen, da bei diesem Reaktionstyp nach Zugabe eines geeigneten Protonendonors zwar die gewünschte freie Hydroxygruppe gebildet wird, dies jedoch unter Freisetzung des entsprechenden Boronsäureesters und des sauren Chlorwasserstoffs erfolgt. Der Ester der Verbindung **89** hält diesen sauren Bedingungen nicht stand. Aus diesem Grund wurde die Reaktionslösung langsam zu einer auf 0 °C gekühlten und gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung getropft, um die saure Esterspaltung beim Beenden der Reaktion zu vermeiden. Die gewünschte debenzilylierte Verbindung **90** konnte mit einer Ausbeute von 67 % erhalten werden. Die selektive 5'-Monophosphorylierung erfolgte unter den bereits in Abschnitt 6.1.2 beschriebenen Reaktionsbedingungen nach Yoshikawa<sup>[144]</sup>, die sich bei der Monophosphorylierung des Adenosin-Derivats **78** bereits bewährt haben. Das gewünschte Monophosphat **48** konnte nach einem vollständigen Umsatz nach 24 Stunden in einer Ausbeute von 65 % erhalten werden.

Für die selektive Phosphorylierung in 5'-Position könnte nach YOSHIKAWA *et al.* eine Wechselwirkung zwischen einem Trialkylphosphat (in dieser Arbeit wurde TMP genutzt) und dem Phosphorylierungsreagenz ( $\text{POCl}_3$ ) eine Rolle spielen. YOSHIKAWA *et al.* postulierten, dass sich aus dem Trialkylphosphat und dem Phosphorylchlorid eine ionisierte Struktur als aktives Phosphorylierungsmittel bildet.<sup>[144]</sup> IKEMOTO *et al.* beschreiben, dass bei der selektiven 5'-Monophosphorylierung das Trialkylphosphat mit dem Nucleosid einen Komplex bildet, welcher über die Hydroxygruppe an der 5'-Position und das nucleophile Stickstoff der Amidgruppe der Base bindet. Dieser Komplex kann aus sterischen Gründen nicht mit den Hydroxygruppen an der 2'- und 3'-Position gebildet werden. Ausgehend von dem gebildeten Komplex und der Aktivierung des 5'-Sauerstoffatoms durch die Komplexierung kann die Phosphorylierung regioselektiv an der 5'-Position erfolgen.<sup>[150]</sup>

#### 6.1.4 Kupplung zum 3'-F-MASTER-NAADP

Die erste Kupplung zum 3'-F-MASTER-NAADP **42** erfolgte bereits in Arbeiten von DEKIERT.<sup>[15]</sup> Es wurde das in dieser Arbeit synthetisierte 3'-F-Monophosphat **49** an den in Arbeiten von DEKIERT synthetisierten oberen Baustein **48** gekuppelt. Da jedoch für die biologischen Zelltests am UKE eine größere Menge dieses Derivats benötigt wurde, erfolgte die Kupplung der beiden Monophosphate **48** und **49** auch im Rahmen dieser Arbeit. Jedoch erfolgte die Kupplung nach einem leicht modifizierten Protokoll.

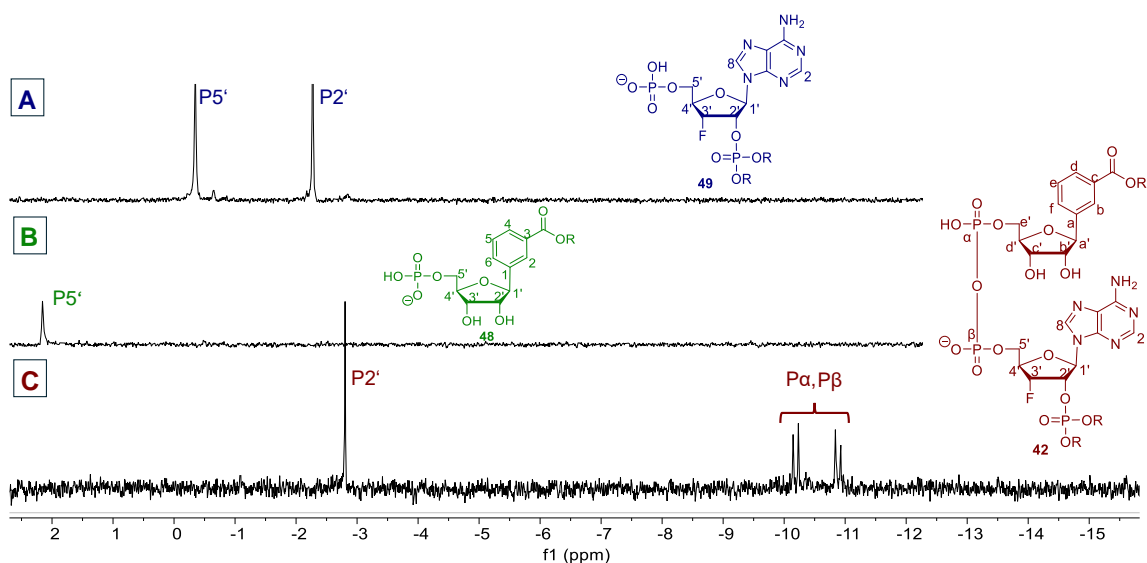
Die Kupplung der beiden Monophosphate **48** und **49** zum gewünschten Pyrophosphat **42** erfolgte nach einem Protokoll von MOHAMADY *et al.* welches von WITT leicht modifiziert wurde (Abbildung 6.25).<sup>[151,152]</sup> Im Gegensatz zu MOHAMADY wurden die Aktivierungsschritte in Arbeiten von WITT bei Raumtemperatur durchgeführt.<sup>[152]</sup>



**Abb. 6.25:** Syntheschema zur Kupplung des 3'-F-MASTER-NAADPs **42** über die stufenweise Aktivierung des Monophosphats **48**.

Für die Aktivierung des Monophosphats **48** wurde das Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) mit Triethylamin für 10 Minuten bei 0 °C in Acetonitril gerührt und anschließend zu einer Lösung des Monophosphats **48** in Acetonitril getropft. Bei diesem Reaktionsschritt entsteht aus dem Monophosphat **48** *in situ* die vollständig geschützte Verbindung **91**. Im Anschluss wurden die flüchtigen Bestandteile der Reaktion unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Acetonitril aufgenommen. Durch die Zugabe von 1-Methylimidazol (NMI) und Triethylamin wird während der Reaktion das vollständig geschützte und aktivierte Monophosphat **92** gebildet. Das aktivierte Monophosphat **92** wurde im Anschluss mit einer Lösung aus dem Diphosphat **49** in Acetonitril versetzt, welches als Nucleophil dient und mit der elektrophilen, aktivierten Verbindung **92** reagiert, wodurch bei dieser Reaktion das Pyrophosphat **42** gebildet wird. Der vollständige Umsatz des im Unterschuss eingesetzten Diphosphats **49** konnte nach einer Reaktionszeit von sieben Stunden beobachtet werden. Durch die wässrige Aufarbeitung der Reaktion werden die TFA-Gruppen abgespalten. Nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **42** lediglich in einer Ausbeute von 18 % erhalten werden. Die geringe Ausbeute ist auf den mehrfach benötigten Ionentausch gefolgt von mehrfachen säulenchromatographischen Reinigungen zurückzuführen. Es erfolgte zuerst eine automatisierte säulenchromatographische Reinigung an RP-18-Kieselgel, um die überschüssigen Salze zu entfernen. Im Anschluss erfolgte der Ionentausch über ein DOWEX-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Harz gefolgt von einer weiteren säulenchromatographischen Reinigung. Das Problem an dieser Stelle war, dass das

Derivat **42** nach einfachem Ionentausch eine Mischung an Ammonium- und Triethylammonium-Gegenionen trug, weshalb der Ionentausch und die gefolgte säulenchromatographische Reinigung mehrfach wiederholt werden mussten. Es konnte jedoch trotz mehrfach durchgeführtem Ionentausch kein vollständiger Austausch der Ionen beobachtet werden, sodass schließlich das gewünschte Produkt **42** aus einem Gemisch mit Triethylammonium- und Ammonium-Gegenionen isoliert werden konnte. In Abbildung 6.26 sind die  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren der beiden Monophosphate **48** und **49** gefolgt von dem Spektrum des isolierten Produkts **42** dargestellt, welche die erfolgreiche Kupplung zum 3'-F-MASTER NAADP **42** bestätigen.

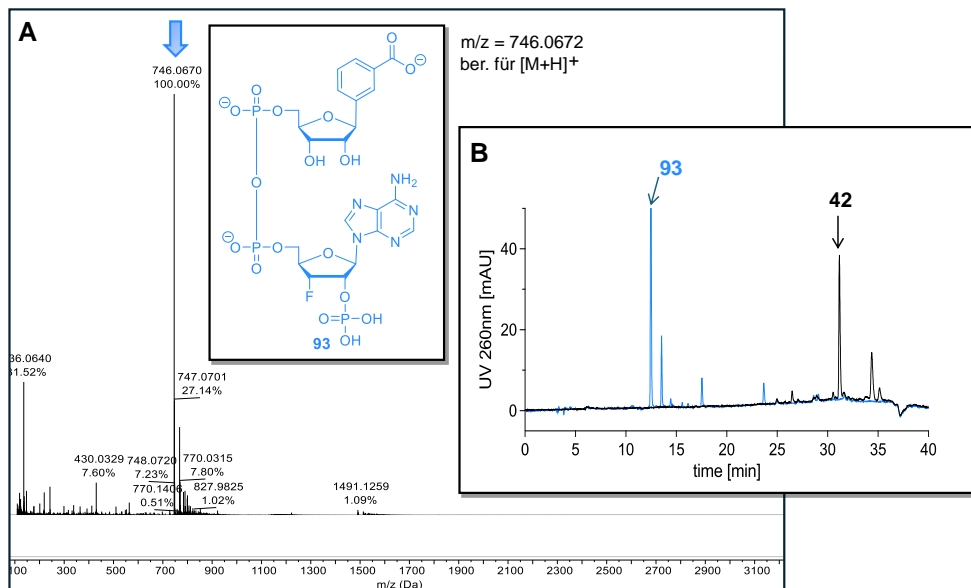


**Abb. 6.26:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des 3'-F-Adenosin-2',5'-diphosphats **49** (600 MHz, 25 °C, DMSO- $d_6$ ) (A),  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des C-Nucleosidmonophosphats **48** (500 MHz, 25 °C, MeOD) (B) und das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum nach der Kupplung zur Darstellung des 3'-F-MASTER-NAADPs **42** (600 MHz, 25 °C, MeOD) (C).

In den  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren der beiden Edukte **49** und **48** (Abb. 6.26, A und B) sind die Singulets mit ihrer charakteristischen Verschiebung für Monophosphate zu erkennen. Im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des Produkts **42** hingegen sind zusätzlich zu dem Singulett des 2'-Monophosphats, die für das Pyrophosphat typischen Signale mit den zu erwartenden Verschiebungen und Aufspaltungsmustern zu erkennen. Die erfolgreiche Kupplungsreaktion und die dadurch erfolgte Knüpfung zum Dinucleotid kann durch die Anwesenheit der beiden Dubletts mit eindeutigem Dacheffekt und mit den für das Dinucleotid **42** charakteristischen Verschiebungen zwischen -10 bis -13 ppm bestätigt werden (Abb. 6.26, C).

In Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von GUSE wurden die Metaboliten, die nach der Inkubation des 3'-F-MASTER-NAADPs **42** mit Schweineleberextrakt (PLE) erhalten wurden, mittels RP-HPLC getrennt. Das Hauptprodukt wurde anschließend mittels

ESI-Massenspektrometrie, als der vollständig demaskierte Metabolit des lipophil maskierten Vorläufers **42** identifiziert, wie in Abbildung 6.27 dargestellt.

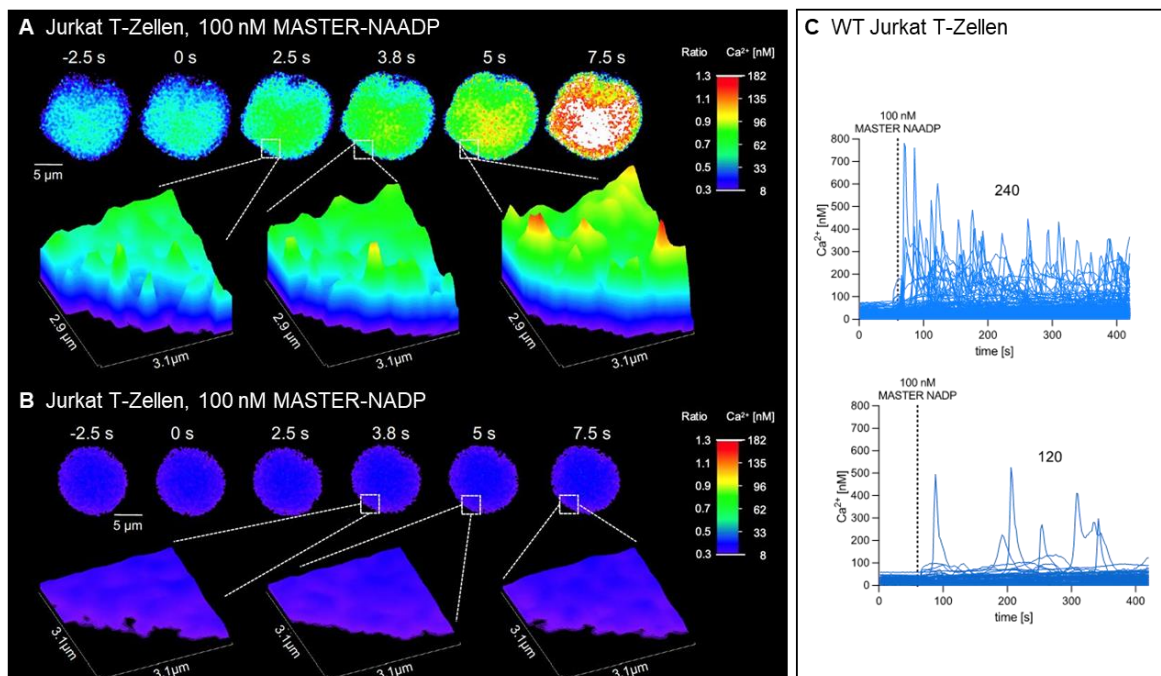


**Abb. 6.27:** Chromatogramm nach fünfminütiger Inkubation in PLE (blau) und vor der Inkubation mit PLE (B). ESI-Massenspektrum, gemessen im positiven Ionenmodus des bei der enzymatischen Hydrolyse gebildeten Metaboliten **93** (A).

Für die enzymatische Hydrolyse wurde der MASTER-Vorläufer **42** am UKE mit 5 µL/mL PLE für fünf Minuten bei 37 °C inkubiert. Die bei diesem Versuch erhaltenen Metaboliten wurden anschließend in dieser Arbeit analysiert. Es konnte mit Hilfe dieses Versuchs bestätigt werden, dass die gewählten Masken mit Hilfe von Schweineleberesterasen erfolgreich und vollständig gespalten werden können und das gewünschte demaskierte und stabilisierte 3'-F-NAADP-Derivat **93** freigesetzt wird.

## 6.2 Biologische Testung vom 3'-F-MASTER-NAADP

Im Anschluss an die erfolgreiche Synthese des 3'-F-MASTER-NAADP-Derivats **42** wurde die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Aktivität dieser Verbindung im Arbeitskreis von GUSE am UKE von MÖCKL an unterschiedlichen Zelltypen untersucht (Abb. 6.28 und Abb. 6.29).<sup>[74]</sup>

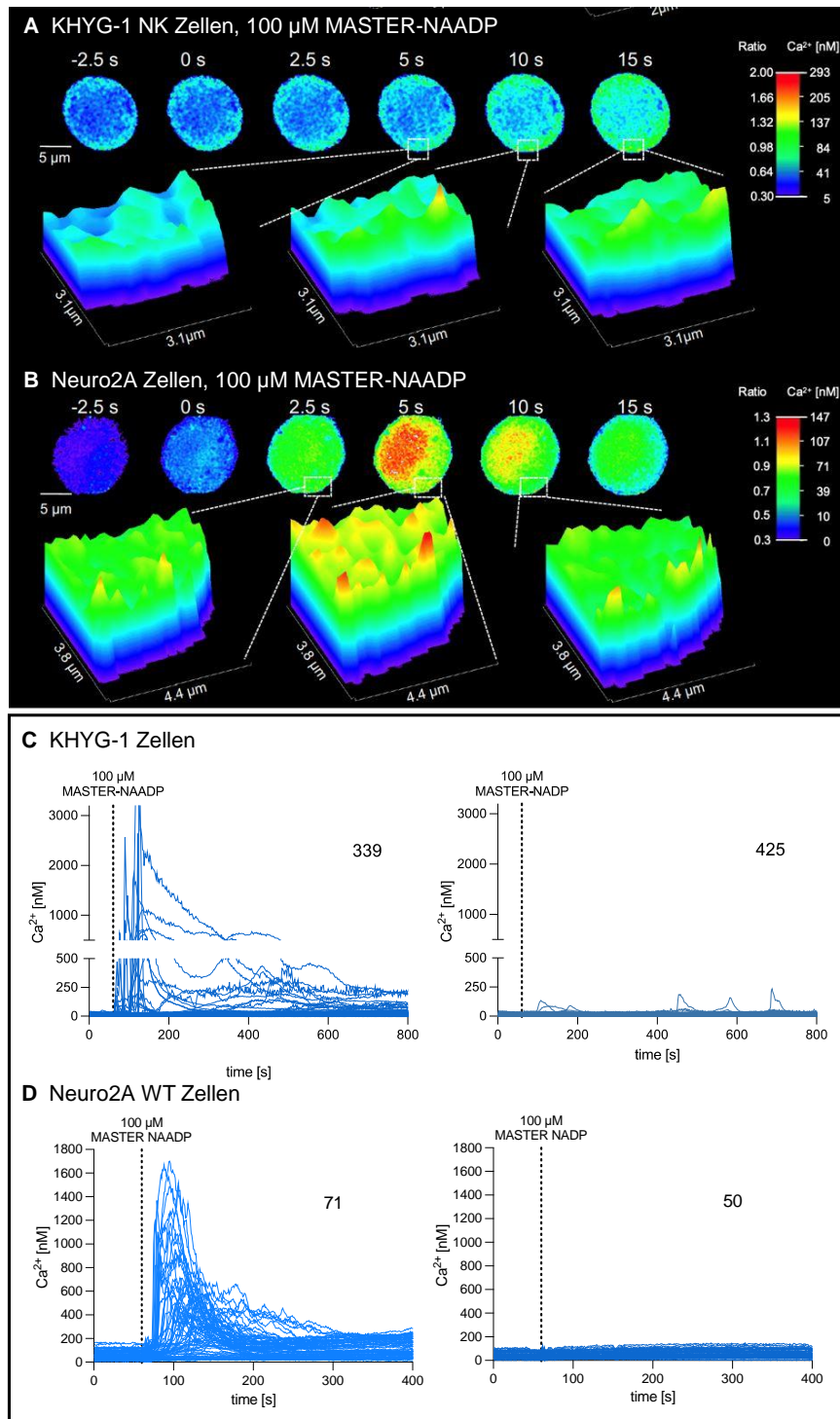


**Abb. 6.28:** Hochauflösende repräsentative  $\text{Ca}^{2+}$ -Bilder von Jurkat T-Zellen, nach der erfolgten Stimulation mit 100 nM 3'-F-MASTER-NAADP **42** (A) oder 100 nM MASTER-NADP (B). Die Jurkat T-Zellen wurden sowohl mit Fluo-4-AM als auch mit Fura-Red-AM beladen. Die globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalübertragung wurde in Jurkat WT T-Zellen mit MASTER-NAADP **42** (100 nM) oder MASTER-NADP (100 nM) (C) gemessen. Diese wurden mit Fura-2-AM beladen. Zudem wurden die Experimente bei 37 °C durchgeführt und SOCE wurde durch die Vorinkubation mit 50  $\mu\text{M}$  Synta66 für fünf Minuten vor der Bildgebung blockiert.<sup>[74]</sup>

Alle Zellen wurden für die Experimente mit Fura-2-AM beladen und mit Hilfe von  $\text{Ca}^{2+}$ -Bildgebung auf globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale untersucht. Alle Messungen wurden bei 37 °C durchgeführt. Die Zellen wurden vor der Bildgebung mit 50  $\mu\text{M}$  Synta66 inkubiert, um SOCE zu blockieren.<sup>[74]</sup>

In diesen biologischen Tests von MÖCKL konnte beobachtet werden, dass  $\text{Ca}^{2+}$ -Mikrodomänen durch das 3'-F-MASTER-NAADP **42** in verschiedenen Zelltypen induziert wurden.<sup>[74]</sup> In Jurkat WT-Zellen wurde beobachtet, dass die durch das MASTER-NAADP **42** hervorgerufenen  $\text{Ca}^{2+}$ -Mikrodomänen zunächst als einzelne Signale mit geringer Amplitude sichtbar wurden. Diese verschmolzen innerhalb weniger Sekunden zu einem globalen Signal (Abb. 6.28, 7.5 s). Die Referenzverbindung, das MASTER-NADP-Derivat, stimuliert im Gegensatz dazu in den meisten Zellen keine lokalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale.<sup>[74]</sup> Zusätzlich zur lokalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung, die innerhalb von wenigen Sekunden nach der extrazellulären Zugabe des MASTER-NAADPs **42** beobachtet wurde, löste das MASTER-NAADP **42** auch

globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale in den Jurkat T-Zellen aus (Abb. 6.28, C). Im Gegensatz dazu stimuliert die Referenzverbindung nur vernachlässigbare  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale in der Minderheit der vermessenen Zellen.<sup>[74]</sup>



**Abb. 6.29:** Hochaufgelöste repräsentative  $\text{Ca}^{2+}$ -Bilder von humanen NK-Zellen, nach der erfolgten Stimulation mit 100  $\mu\text{M}$  3'-F-MASTER-NAADP **42** (A) und von Neuro2A-Zellen, nach der erfolgten Stimulation mit 100  $\mu\text{M}$  3'-F-MASTER-NAADP **42** (B). Die Zellen wurden sowohl mit Fluo-4-AM als auch mit Fura-Red-AM nach der Stimulation beladen. Die globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalübertragung wurde in KHYG-1-Zellen mit MASTER-NAADP **42** (100  $\mu\text{M}$ ) oder MASTER-NADP (100  $\mu\text{M}$ ) (C) und in Neuro2A WT-Zellen mit MASTER-NAADP **42** (100  $\mu\text{M}$ ) oder MASTER-NADP (100  $\mu\text{M}$ ) (D) gemessen.<sup>[74]</sup>

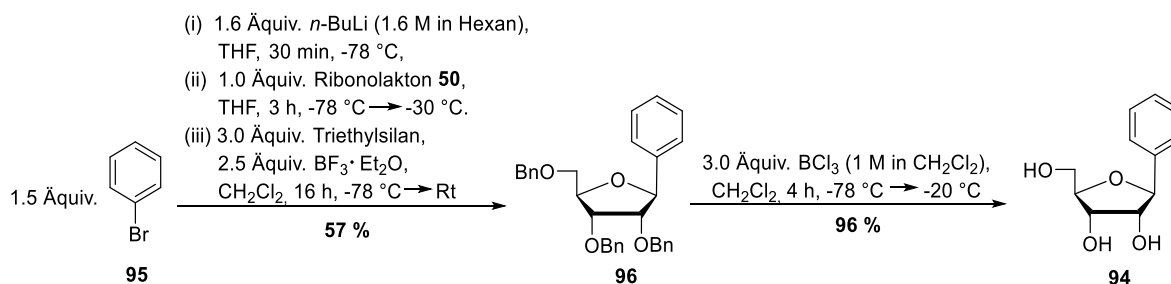
Zusätzlich zu den Untersuchungen in den Jurkat WT-Zellen wurde die durch das MASTER-NAADP **42** induzierte Calciumfreisetzung von MÖCKL auch in KHYG-1 natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) getestet. Ähnlich wie bei den Jurkat T-Zellen wurden schnelle lokale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale beobachtet (Abb. 6.29, A). In KHYG-1 Zellen löste MASTER-NAADP **42** schnelle globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale aus (Abb. 6.29, C). Zudem wurde in Arbeiten von MÖCKL auch die neuronale Zelllinie Neuro2A mit MASTER-NAADP **42** und MASTER-NADP stimuliert. Auch hier konnte durch die Zugabe von MASTER-NAADP **42** die Bildung von lokalen, sowie globalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalen beobachtet werden (Abb. 6.29, B und D).<sup>[74]</sup>

MASTER-NAADP **42** scheint daher ein generell geeignetes Modul für die Studien zur NAADP-Signaltransduktion zu sein. Das membranpermeable, stabilisierte und lipophil maskierte Derivat **42** kann zur Untersuchung von NAADP-vermittelten  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalprozessen in unterschiedlichen Zelltypen eingesetzt werden.<sup>[74]</sup>

### 6.3 Synthese einer 3'-F-MASTER-Referenzverbindung

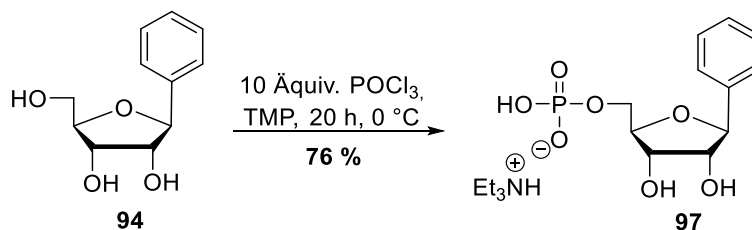
Nachdem das 3'-F-MASTER-NAADP **42** erfolgreich synthetisiert werden konnte und auch bereits biologische Tests mit dieser Verbindung **42** durchgeführt wurden, sollte im Rahmen dieser Arbeit eine geeignete Referenzverbindung als Negativkontrolle für die biologischen Tests am UKE synthetisiert werden. Dabei soll es sich um ein nicht  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzendes äquivalentes Derivat handeln. Zu diesem Zeitpunkt wurde für die Tests als Referenz noch die 3'-OH-NADP-Referenz von DEKIERT genutzt, die jedoch kein Fluor an der 3'-Position trägt und somit keine direkte äquivalente Referenzverbindung des fluorierten NAADP-Derivats darstellt.<sup>[15,74]</sup> Es kommen zwei mögliche 3'-fluorierte Referenzverbindungen in Frage, die beide keine  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Wirkung zeigen sollten. Zum einen könnte ein Phenyl-Derivat als geeignetes C-nucleosidisches und fluoriertes Analogon dienen, bei dem im Gegensatz zum nativen NAADP die Carbonsäure fehlt und somit inaktiv sein müsste. Da die Carbonsäure ein sehr wichtiges, aktivitätsrelevantes Strukturelement vom NAADP darstellt, wie bereits in Abschnitt 4.2.1 näher erläutert wurde. Zum anderen bietet sich die Synthese eines lipophil maskierten, fluorierten C-nucleosidischen Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (NADP)-Derivats an. Dieses Derivat besitzt an Stelle der Carbonylfunktion am oberen Baustein ein Carbonsäureamid. Das NADP ist bekannt dafür, dass es keine rezeptorvermittelte  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Eigenschaft besitzt.<sup>[43,44]</sup>

Die Synthese der 1'-Phenylribofuranose **94** erfolgte nach dem Protokoll von PARSCH *et al.*, wie in Abbildung 6.30 dargestellt.<sup>[153]</sup>



**Abb. 6.30:** Synthese der 1'-Phenylribose **94** ausgehend vom Lacton **50**.

Für die Knüpfung der C-glykosidischen Bindung wurde das Bromid **95** für 30 Minuten bei -78 °C mit *n*-Butyllithium in THF zur lithiierten Verbindung umgesetzt. Diese wurde im Anschluss mit dem Ribonolacton **50** bei -78 °C für drei Stunden gerührt, bis ein vollständiger Umsatz beobachtet wurde. Das entstandene Zwischenprodukt wurde lediglich wässrig aufgearbeitet, ohne weitere Reinigung in Dichlormethan gelöst und bei -78 °C mit Triethylsilan und Bortrifluoridetherat versetzt. Nachdem auch bei diesem Reaktionsschritt ein vollständiger Umsatz beobachtet wurde, wurde das Rohprodukt aufgearbeitet und säulenchromatographisch gereinigt. Das C-Nucleosid **96** konnte in einer Ausbeute von 57 % erhalten werden. Diese Ausbeute lag unterhalb der in der Literatur angegebenen Ausbeute von 75 %.<sup>[153]</sup> Für die Debenzylierung wurde die Lewis-Säure Bortrichlorid eingesetzt. In der Vorschrift von PARSCH *et al.* wurde an dieser Stelle das Bortribromid zur Debenzylierung der Verbindung eingesetzt. Nachdem ein vollständiger Umsatz beobachtet wurde, wurde die Reaktion durch Zugabe eines Lösungsmittelgemisches aus Dichlormethan und Methanol (1:1) beendet. Im Gegensatz zur Debenzylierung in Abschnitt 6.1.3 (Abb. 6.24) musste bei dieser Reaktion nicht berücksichtigt werden, dass unter den sauren Bedingungen durch die Bildung von HCl die lipophile Maske gespalten werden könnte. Daher wurde wie in der Literatur angegeben Dichlormethan und Methanol anstelle der eisgekühlten gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung verwendet.<sup>[153]</sup> Das gewünschte debenzylierte Produkt **94** konnte in einer sehr guten Ausbeute von 96 % erhalten werden, die über der in der Literatur angegebenen Ausbeute von 69 % lag.<sup>[153]</sup>

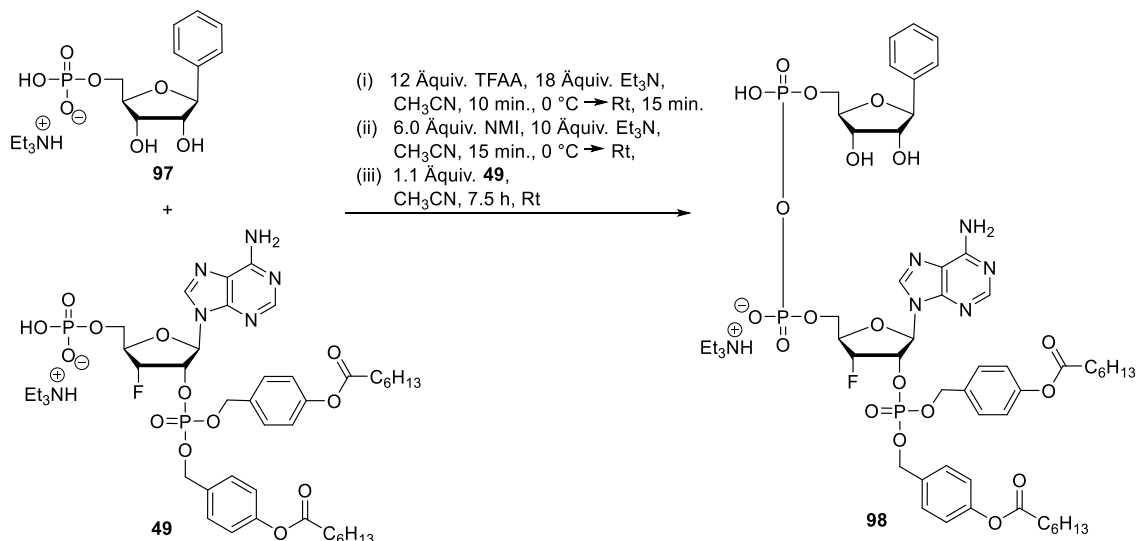


**Abb. 6.31:** Monophosphorylierung nach YOSHIKAWA zur Synthese des Monophosphats **97**.

Die selektive 5'-Monophosphorylierung (Abb. 6.31) erfolgte nach dem bereits bekannten Protokoll von YOSHIKAWA.<sup>[144]</sup> Dafür wurde die 1'-Phenylribose **94** in TMP gelöst und bei 0 °C POCl<sub>3</sub> zur Reaktionslösung gegeben. Nachdem diese für 20 Stunden bei 0 °C gerührt

wurde, konnte ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Das 5'-Monophosphat **97** wurde in einer Ausbeute von 76 % erhalten.

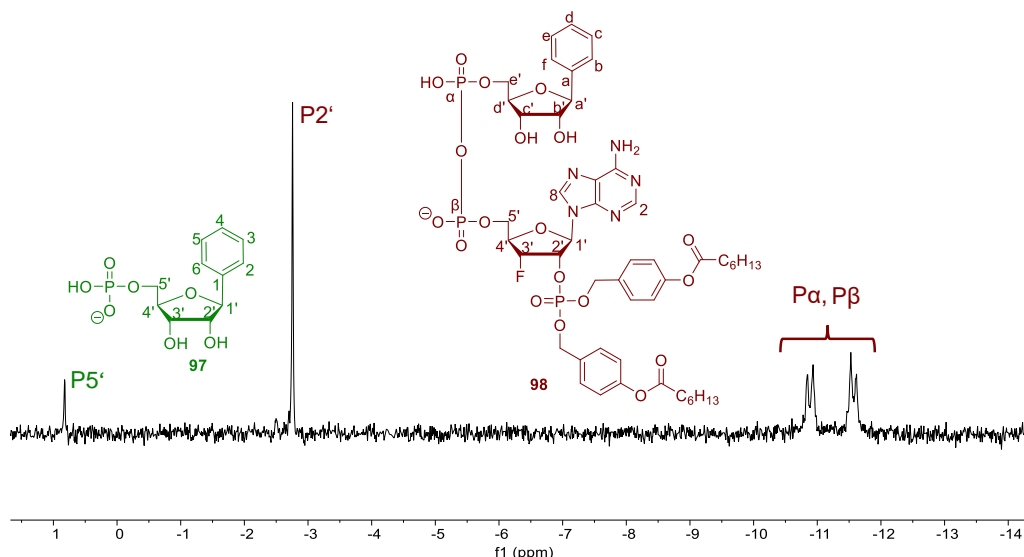
Die Kupplung der beiden Monophosphate **97** und **49** zur Darstellung der Referenzverbindung **98** erfolgte nach dem Protokoll von MOHAMADY *et al.*<sup>[151]</sup> (Abb. 6.32), analog zu der bereits in Abschnitt 6.1.4 beschriebenen Kupplung des 3'-F-MASTER-NAADPs **42**.



**Abb. 6.32:** Kupplung der Monophosphate **97** und **49** zur Darstellung der Phenyl-3'-F-MASTER-Referenzverbindung **98**.

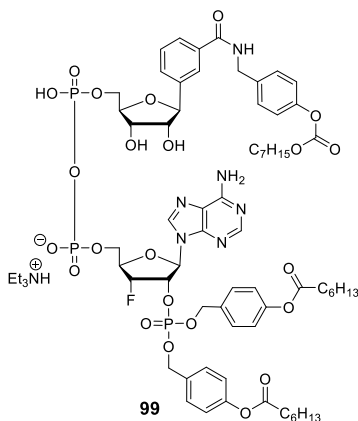
Die Aktivierung des oberen Bausteins **97** erfolgte unter Verwendung von TFAA und NMI. Das aktivierte Monophosphat **97** wurde im Anschluss mit einer Lösung aus dem Diphosphat **49** in Acetonitril versetzt, welches als Nucleophil diente und mit der elektrophilen, aktivierten Verbindung reagierte, wodurch sich das Pyrophosphat **98** bildete. Es konnte nach 7.5 Stunden der vollständige Umsatz der Unterschusskomponente **49** beobachtet werden, weshalb die Reaktion beendet und die flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt wurden. Eine automatisierte säulenchromatographische Reinigung an RP-18-Kieselgel wurde durchgeführt, um überschüssige Salze zu entfernen. Es folgte eine weitere säulenchromatographische Reinigung, um das gewünschte Produkt **98** von dem im Überschuss eingesetzten Monophosphat **97** zu trennen. Jedoch konnte beobachtet werden, dass das Monophosphat **97** mit dem Produkt koeluierte. Im Anschluss wurde ein Ionentausch über ein DOWEX-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Harz durchgeführt in der Hoffnung, dass die Trennung der beiden Moleküle dadurch erleichtert werden kann. Das Problem war jedoch, wie schon bei der Kupplung des 3'-F-MASTER-NAADPs **42** in Abschnitt 6.1.4, dass das Molekül nach einfachem Ionentausch eine Mischung an Ammonium- und Triethylammonium-Gegenionen trug, weshalb der Ionentausch und die gefolgte säulenchromatographische Reinigung auch hier mehrfach wiederholt werden mussten. Es konnte jedoch trotz mehrfacher Durchführung kein vollständiger Tausch der

Ionen beobachtet werden, wodurch die Reinigung der gewünschten Verbindung **98** zusätzlich erschwert wurde. Auch durch eine weitere säulenchromatographische Reinigung mit einem Triethylammoniumbicarbonat-Puffer statt des Wassers konnte keine vollständige Trennung des gewünschten Produkts **98** vom Monophosphat **97** erfolgen, was mit Hilfe des in Abbildung 6.33 gezeigten  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrums bestätigt werden konnte.



**Abb. 6.33:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum der 3'-F-MASTER-Referenz **98** (600 MHz, 25 °C, MeOD) mit leichter Verunreinigung des im Überschuss eingesetzten Edukts **97**.

Das Produkt **98** konnte trotz Ionentausch und mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung nur leicht verunreinigt mit dem Monophosphat **97** erhalten werden, weshalb die Synthese einer anderen Referenzverbindung **99** erfolgen sollte. Im Gegensatz zur Referenzverbindung **98** bietet sich das 3'-F-NADP-Derivat **99** als geeignetes C-nucleosidisches-Derivat an, da es bis auf das Carboxamid eine identische Struktur aufweist und auch das Maskenkonzept hier dem des 3'-F-MASTER-NAADP-Derivats **42** ähnlicher ist.

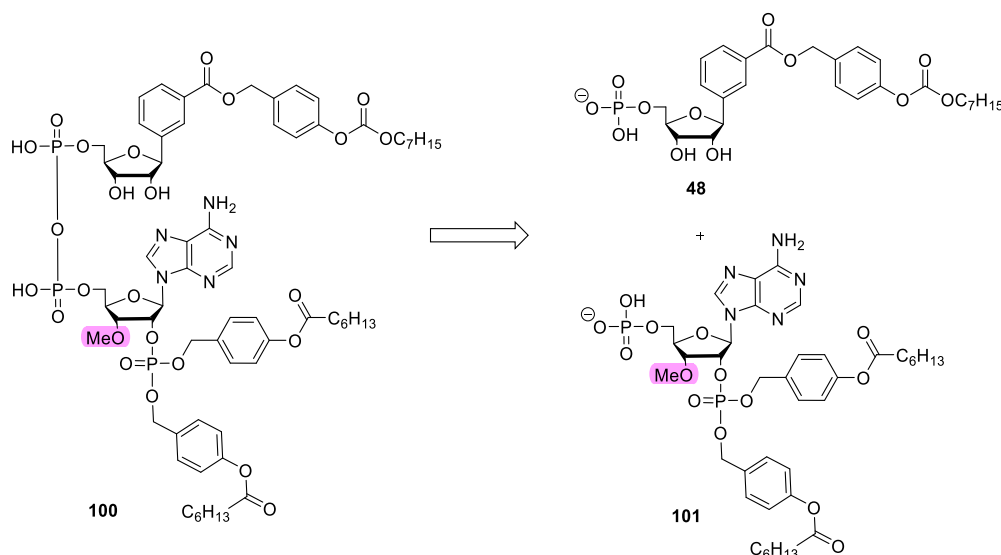


**Abb. 6.34:** 3'-F-MASTER-NADP **99** als Referenzverbindung für das 3'-F-MASTER-NAADP **42**.

In Zusammenarbeit mit HOFMANN, die den oberen Baustein für die Referenzverbindung zur Verfügung stellte, konnte das 3'-F-MASTER-NADP-Derivat **99** erfolgreich synthetisiert werden. Der Kupplungsschritt der beiden Bausteine erfolgte in Arbeiten von HOFMANN.<sup>[154]</sup>

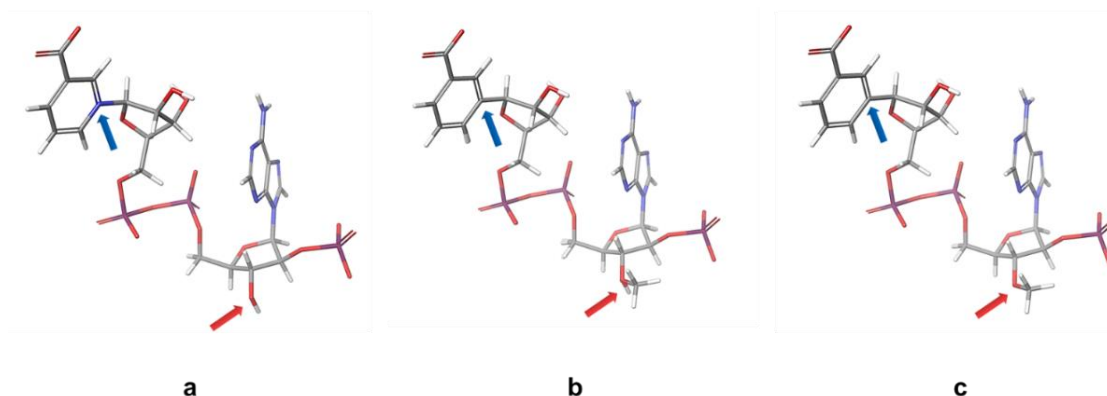
## 6.4 Synthese des 3'-OMe-MASTER-NAADPs

Da sich bei wiederholter Synthese des 3'-Desoxy-3'-F-adenosins **53** herausstellte, dass diese Syntheseroute nicht immer einwandfrei reproduzierbar war und deutliche Ausbeuteschwankungen bei einigen Syntheseschritten auftraten, sollte ein alternatives NAADP-Derivat synthetisiert und anschließend auf seine caliciumfreisetzenden Eigenschaften hin untersucht werden. Der Syntheseschritt der Fluorierung zeigt nach mehrfacher Wiederholung der Route große Ausbeuteschwankungen. Der Plan für die Synthesen der verschiedenen MASTER-NAADP-Derivate ist eine Art Baukastensystem. Bei diesem System sollten alle Bausteine (die „oberen“ sowie die „unteren“ Bausteine) synthetisiert werden und dann mit unterschiedlichen Maskenkonzepten maskiert und im Anschluss zum jeweiligen MASTER-NAADP-Derivat gekuppelt werden. Dafür sollte die Synthese eines weiteren 3'-modifizierten-NAADP-Derivats **100** erprobt werden. In diesem Fall sollte statt des 3'-F-Adenosins **53**, das 3'-OMe-Adenosin **101** synthetisiert und anschließend an den bekannten oberen Baustein **48**, dessen Synthese in Abschnitt 6.1.3 beschrieben wurde, gekuppelt werden (Abb. 6.35).



**Abb. 6.35:** Strukturen des 3'-modifizierten MASTER-NAADP-Derivats **100**, dessen Synthese im Rahmen dieser Arbeit erprobt wurde, und die Strukturen der beiden Bausteine **48** und **101**.

Die computergestützte Modellierung des vollständig demaskierten, jedoch stabilisierten 3'-OMe-NAADPs und die Überlagerung mit dem nativen NAADP **3** sind in Abbildung 6.36 dargestellt.



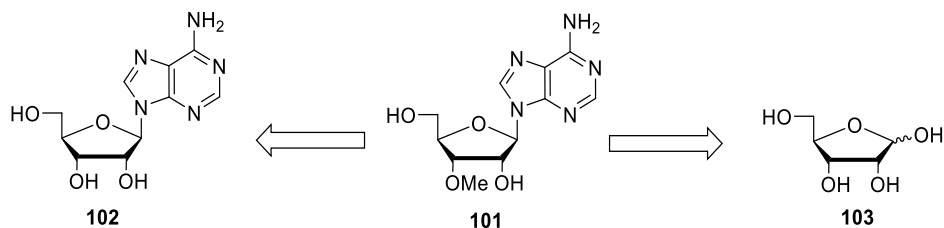
**Abb. 6.36:** Molekulare Modellierung von: (a) NAADP, (b) Überlagerung des NAADP mit dem Benzoesäure-C-nucleosid-3'-OMe-adenosin-2',5'-diphosphat, (c) Benzoesäure-C-nucleosid-3'-OMe-adenosin-2',5'-diphosphat. Hervorzuheben sind die 3'-Hydroxygruppe, die 3'-Methoxygruppe und die Überlagerung dieser beiden Gruppen (roter Pfeil) sowie die C-glykosidische Position, die N-glykosidische Position und die Überlagerung dieser beiden Struktur motive (blauer Pfeil).

Auch bei der computergestützten Überlagerung der 3'-OMe-Verbindung mit dem nativen NAADP zeigt sich, dass diese Verbindungen eine sehr ähnliche Gesamtstruktur aufweisen. Durch die Substitution der Hydroxygruppe mit der Methoxygruppe wird jedoch der Größenunterschied dieser Gruppen in den überlagerten Strukturen ersichtlich. Da jedoch vor allem die Lage der strukturelevanten funktionellen Gruppen ausschlaggebend für die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Wirkung ist (siehe Abschnitt 4.2.1), sollte der hier beobachtete Größenunterschied der 3'-Hydroxygruppe zur 3'-Methoxygruppe keine Inaktivierung dieses demaskierten 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats (Abb. 6.36, C) zur Folge haben. Diese Annahme basiert auf den im Abschnitt 4.2.1 beschriebenen Struktur-Aktivitätsbeziehungen des NAADPs. LEE und AARHUS beobachteten, dass sobald die Phosphatgruppe an der 3'- statt an der 2'-Position oder an beiden Positionen cyclisch gebunden war, dies zwar zu einer Abnahme der  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Wirkung führte, die modifizierten Derivate jedoch nicht inaktiv wurden.<sup>[42]</sup>

Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit die Synthese des 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **100** erprobt werden und zukünftig der Einfluss dieser Modifikation auf die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzenden Eigenschaften in Zellen untersucht werden.

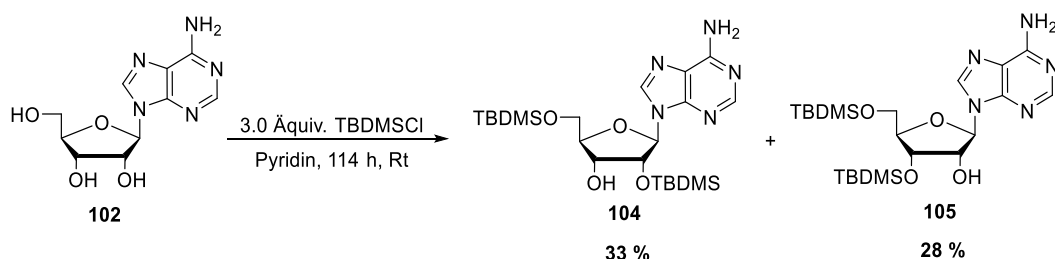
### 6.4.1 Synthese von 3'-OMe-Adenosin

Für die Methylierung der 3'-Position am Adenosin sind zwei Wege ausgehend von zwei verschiedenen kommerziell erhältlichen Edukten möglich. Diese Ansätze zur Synthese von 3'-OMe-Adenosin **101** sind in Abbildung 6.37 dargestellt.



**Abb. 6.37:** Zwei retrosynthetische Ansätze zur Synthese des 3'-OMe-Adenosins **101**.

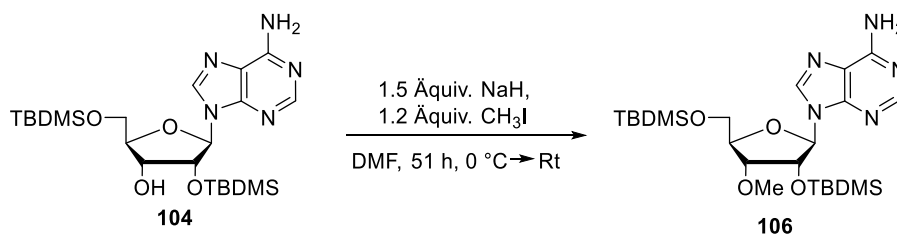
Es sollte in dieser Arbeit zuerst die Syntheseroute zur Darstellung des 3'-OMe-Adenosins **101** ausgehend vom kommerziell erhältlichen Adenosin **102**, erprobt werden. Die Synthese, ausgehend vom Adenosin **102** würde zum einen Syntheseschritte, wie die *N*-Glykosylierung vermeiden. Andererseits könnte sie im Gegensatz zur Syntheseroute ausgehend von der Ribose **103** mit einer geringeren Anzahl an Syntheseschritten verbunden sein. Die Einführung der Methoxygruppe an der 3'-Position sollte über die Methylierung des zuvor 2',5'-TBDMS-geschützten Adenosins **104**, erfolgen. Diese Synthesestrategie basiert auf einem Protokoll von HYTE *et al.*, bei dem Adenosin **102** ohne weitere Schutzgruppen an der 2'-Position mit einer soliden Ausbeute von 67 % methyliert wurde.<sup>[155]</sup> Um eine selektive 3'-Methylierung zu erlangen, wurden zuvor in dieser Arbeit die 2'- und 5'-Positionen mit Silylschutzgruppen geschützt. Die Einführung der Schutzgruppen erfolgte in Anlehnung an Vorschriften von MEIER *et al.*<sup>[156]</sup>, NGUYEN-TRUG *et al.*<sup>[157]</sup> und HALLIGAN *et al.*<sup>[158]</sup>, wie in Abbildung 6.38 dargestellt.



**Abb. 6.38:** Reaktionsbedingungen zur Darstellung des zweifach silylierten Adenosins **104**. Neben der Darstellung des gewünschten Produkts **104** konnte das Nebenprodukt **105** isoliert werden.

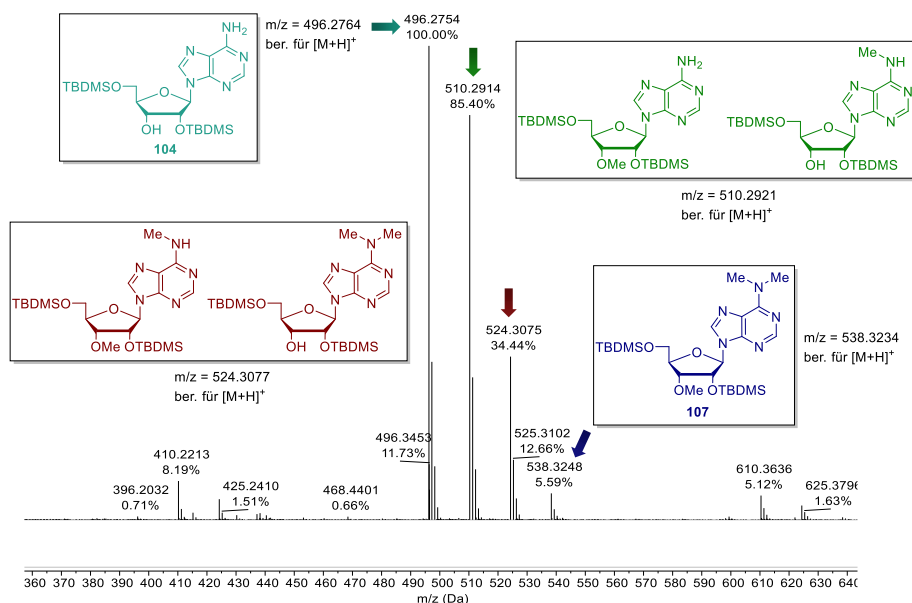
Für die TBDMS-Schätzung wurde Adenosin **102** in Pyridin gelöst, *tert*-Butyldimethylsilylchlorid zugegeben und der Reaktionsansatz für 114 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das gewünschte Produkt **104** konnte nach erfolgter säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 33 % isoliert werden. Es konnte außerdem das Nebenprodukt **105**, welches an der 5'- und 3'-Position silyliert wurde, in einer Ausbeute von

28 % erhalten werden. Die Ausbeute war deutlich niedriger als die in der Literatur angegebenen 61 %. Dies ist darauf zurückzuführen, dass im Protokoll von HALLIGAN *et al.*<sup>[158]</sup> das erhaltene Nebenprodukt **105** durch Isomerisierung der TBDMS-Schutzgruppen von der 3'-Position zur 2'-Position in das gewünschte Produkt **104** überführt wurde, was zu diesem Zeitpunkt in dieser Arbeit noch nicht versucht wurde. Die Optimierung der TBDMS-Schützung sollte erst erfolgen, wenn die anschließende Methylierung erfolgreich war. Die Einführung der Methoxygruppe sollte in Anlehnung an eine Vorschrift von HYDE *et al.* erfolgen, wie in Abbildung 6.39 dargestellt.<sup>[155]</sup>



**Abb. 6.39:** Syntheseversuch zur Darstellung des selektiv 3'-methylierten Adenosins **106**.

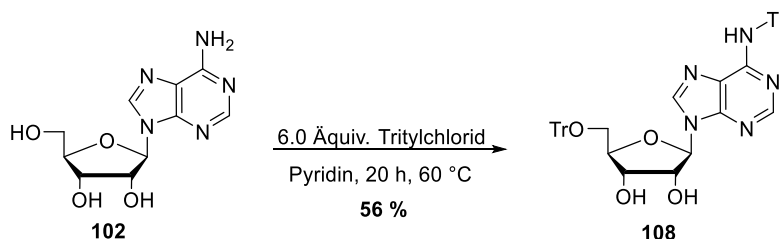
Es wurde das silylierte Derivat **104** in DMF gelöst und bei 0 °C Natriumhydrid zugegeben. Im Anschluss wurde für die Methylierung bei 0 °C Methyljodid langsam zugetropft. Es konnte dünnschichtchromatographisch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Da jedoch die Bildung mehrerer Nebenprodukte beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion nach 51 Stunden abgebrochen. Trotz säulenchromatographischer Reinigung konnte lediglich ein Produktgemisch isoliert werden, welches massenspektrometrisch analysiert wurde.



**Abb. 6.40:** HRMS-ESI<sup>+</sup>-Spektrum des Produktgemisches nach der versuchten Methylierung von Verbindung **104**.

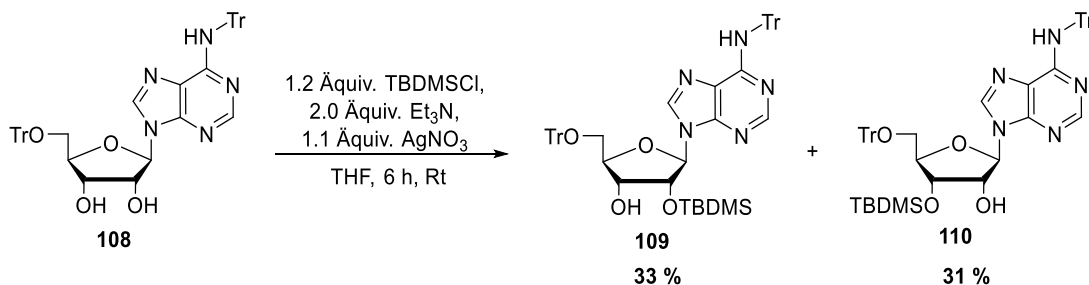
Wie in Abbildung 6.40 dargestellt, konnte mit Hilfe des HRMS-ESI<sup>+</sup>-Spektrums gezeigt werden, dass nicht nur die selektive Methylierung der 3'-Position erfolgte. Im ESI-Spektrum ist die Masse des Edukts **104**, die eines einfach methylierten Produkts (Abb. 6.40, grün), eines zweifach methylierten Nebenprodukts (Abb. 6.40, rot) und des dreifach methylierten Nebenprodukts **107** zu erkennen. Es ist anzumerken, dass bei dem einfach und dem zweifach methylierten Nebenprodukt mittels der Massenspektrometrie nicht festgestellt werden konnte, ob die Methylierung an der gewünschten 3'-OH-Gruppe stattfand oder ob zuerst das Amin der Base methyliert wurde.

Im Anschluss an diesen Syntheserversuch wurde eine weitere Syntheseroute erprobt, bei der die Schützung desamins durchgeführt werden sollte, um die Methylierung desamins zu verhindern und die selektive Methylierung der 3'-Position zu ermöglichen.



**Abb. 6.41:** Darstellung des zweifach tritylgesch\u00fctzten Adenosins **108**.

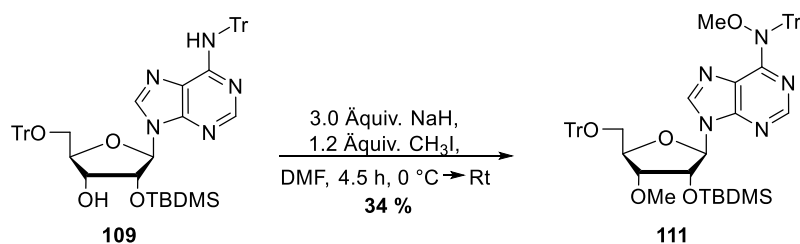
Es wurde im ersten Schritt Adenosin **102** an der 5'-Position sowie am Amin mit jeweils einer Tritylschutzgruppe nach einem Protokoll von KICS\u00c1K *et al.* gesch\u00fctzt (Abb. 6.41).<sup>[159]</sup> Daf\u00fcr wurde Adenosin **102** in Pyridin suspendiert und Tritylchlorid zugegeben. Nach 20 Stunden wurde die Reaktion beendet und nach w\u00e4ssriger Aufarbeitung und s\u00e4ulenchromatographischer Reinigung konnte das zweifach tritylgesch\u00fctzte Produkt **108** in einer Ausbeute von 56 % erhalten werden. Um die Bildung von Nebenprodukten bei der Methylierung weiterhin zu reduzieren, sollte zus\u00e4tzlich zu den Tritylschutzgruppen eine TBDMS-Gruppe an der 2'-Position eingef\u00fchrt werden. Die Einf\u00fchrung der Silylschutzgruppe sollte nach einem Protokoll von TRZUPEK und SHEPPARD erfolgen (Abb. 6.42).<sup>[160]</sup>



**Abb. 6.42:** TBDMS-Sch\u00fctzung der 2'-Hydroxygruppe des tritylgesch\u00fctzten Adenosins **108** zur Darstellung von Verbindung **109**.

Es wurden diese Reaktionsbedingungen gewählt, da in Arbeiten von ALLERSON *et al.* beschrieben wurde, dass bei deren Syntheseversuchen zur Silylierung der Ribose unter Standardbedingungen (TBDMSCl, Imidazol, DMF) die DMT-Schutzgruppen gespalten wurden.<sup>[161]</sup> Da die DMT-Schutzgruppen strukturell sehr ähnlich zu den in dieser Arbeit genutzten Tritylgruppen sind, wurden die von ALLERSON *et al.* genutzten Reaktionsbedingungen, die von TRZUPEK und SHEPPARD übernommen wurden, im Gegensatz zu den Standardbedingungen der TBDMS-Schützung gewählt. Für die Silylschützung stehen die 2'- und die 3'-Position in direkter Konkurrenz zueinander. Es konnte das gewünschte Produkt **109** in einer Ausbeute von 33 % isoliert werden. Zusätzlich konnte das 3'-O-TBDMS-geschützte Nebenprodukt **110** in einer Ausbeute von 31 % erhalten werden.

Für die 3'-Methylierung wurde die 2'-TBDMS-geschützte Verbindung **109** weiter umgesetzt, wobei die in diesem Abschnitt bereits genutzten Reaktionsbedingungen für die Methylierung des geschützten Adenosins **104** (Abb. 6.39) genutzt wurden, wie in Abbildung 6.43 dargestellt.

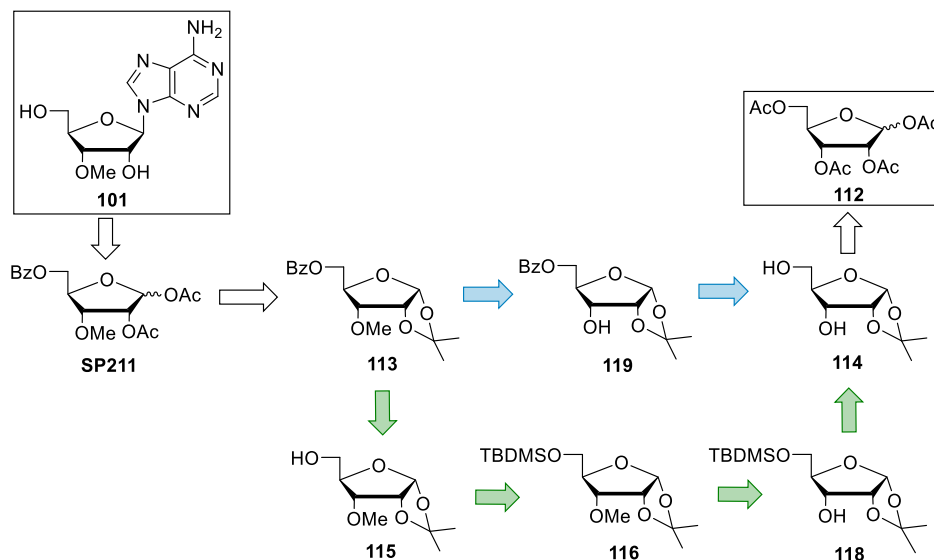


**Abb. 6.43:** Methylierung der maskierten Verbindung **109**.

Dünnschichtchromatographisch konnte während der Reaktion die Bildung diverser Nebenprodukte beobachtet werden. Anstelle des gewünschten einfach methylierten Derivats konnte nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung lediglich das zweifach methylierte Derivat **111** in einer Ausbeute von 34 % erhalten werden.

Die Synthese des 3'-OMe-Adenosin-Derivats **101** ausgehend vom Adenosin **102** erwies sich aufgrund der Bildung verschiedener mehrfach methylierter Nebenprodukte als komplex. Dies erschwert die Isolierung des jeweils gewünschten 3'-methylierten Produkts nach dem Methylierungsschritt. Außerdem ist das 3'-methylierte Derivat nicht das während der Reaktion gebildete Hauptprodukt und würde daher, selbst wenn es vollständig isoliert werden würde in Kombination mit der zuvor erforderlichen orthogonalen Schutzgruppenstrategie, nur in sehr geringen Gesamtausbeuten erhalten werden.

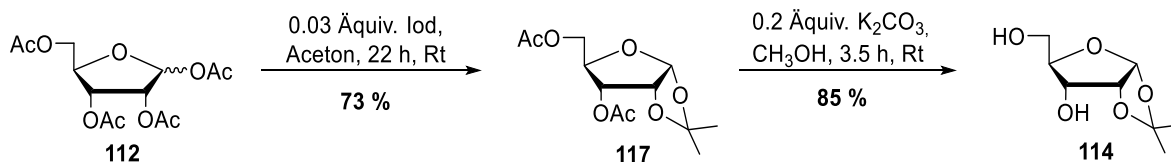
Aus diesem Grund sollte eine neue Syntheseroute erprobt werden, bei der das 3'-OMe-Adenosin-Derivat **101** ausgehend von der kommerziell erhältlichen Tetra-acetyl-ribose **112**, dargestellt werden sollte. Zwei dafür mögliche Synthesewege mit unterschiedlicher Schutzgruppenstrategie sind retrosynthetisch in Abbildung 6.44 dargestellt.



**Abb. 6.44:** Retrosyntheseschema zur Darstellung des 3'-OMe-Adenosins **101**. Das Schema kann in zwei möglichen Retrosynthesewege unterteilt werden, welche sich in ihrer Schutzgruppenstrategie unterscheiden (grün und blau).

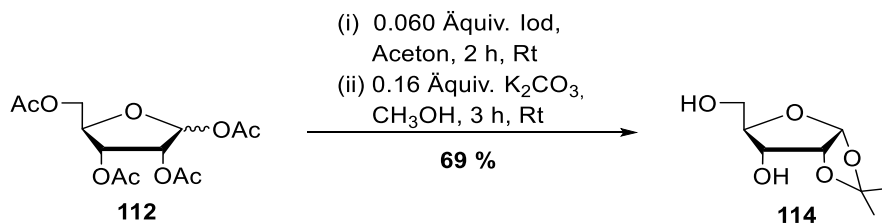
Bei beiden möglichen Synthesestrategien sollte das Adenosin **101** über zwei Schritte aus der *Isopropyliden*-geschützten Verbindung **113** erhalten werden. Beide möglichen Syntheserouten zur Darstellung dieser Verbindung **113** sollten ausgehend von der 1,2-*Isopropyliden*-geschützten Ribose **114** erfolgen. Zwei orthogonale Schutzgruppenstrategien sollten erprobt werden. Im Gegensatz zur Syntheseroute, bei der die 5'-Position direkt benzoylgeschützt wird (Abb. 6.44, blau), sollte bei der TBDMS-Route (Abb. 6.44, grün) die Verbindung **115** nach der Desilylierung von Verbindung **116** mit einer Benzoylgruppe an der 5'-Position geschützt werden. Dies hätte zur Folge, dass der synthetische Aufwand bei der TBDMS-Route insgesamt höher ausfallen würde. Da die Spaltungsreaktion der *Isopropyliden*klammer unter stark sauren Bedingungen abläuft, die auch die Spaltung der 5'-TBDMS-Gruppe zur Folge hätte, sollte die Silylschutzgruppe bei der Silylroute (Abb. 6.44, grün) zuvor gegen eine säurestabilere Schutzgruppe ausgetauscht werden.

Die Synthese der Ausgangsverbindung **114** für beide Syntheserouten sollte ausgehend von der kommerziell erhältlichen acetylierten Ribose **115** erfolgen. Die Synthese der *Isopropyliden*-geschützten Ribose **117**, gefolgt von der Acetylspaltung zur Darstellung von Verbindung **114** erfolgte nach der Vorschrift von Li *et al.*<sup>[126]</sup> Die Reaktionsbedingungen sind in Abbildung 6.45 dargestellt.



**Abb. 6.45:** Synthese der *Isopropyliden*-geschützten Ribose **114** ausgehend von der kommerziell erhältlichen tetraacetylierten Ribose **112**.

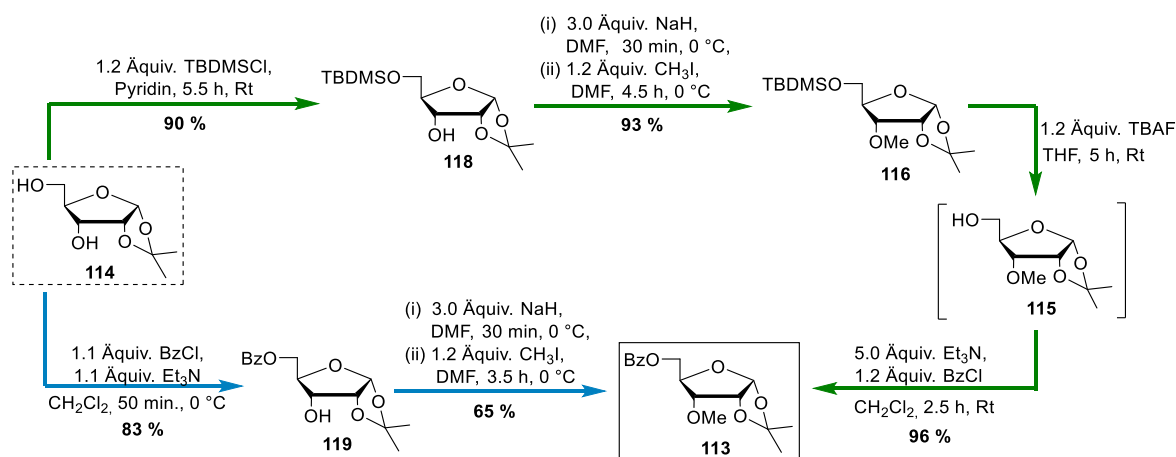
Die Synthese des *Isopropyliden*-geschützten Derivats **117** erfolgte in Aceton unter Iod-Katalyse. Das gewünschte Produkt **117** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 73 % erhalten werden, welche leicht unter der Literaturausbeute lag.<sup>[126]</sup> Im Anschluss erfolgte die Spaltung der beiden Acetylgruppen unter basischer Katalyse in Methanol, wobei die entschützte Verbindung **114** in einer Ausbeute von 85 % erhalten wurde. Nachdem beim ersten Syntheseschritt dünnschichtchromatographisch nur die Bildung eines Produkts beobachtet wurde, sollten die beiden Reaktionsschritte noch einmal wiederholt werden und das im ersten Syntheseschritt erhaltene Rohprodukt ohne weitere Reinigung im zweiten Schritt eingesetzt werden, wie in Abbildung 6.46, gezeigt. Darüber hinaus konnte bei der Iod-katalysierten *Isopropylidensch*tzung bereits nach zwei Stunden ein vollständiger Umsatz mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet werden.



**Abb. 6.46:** Synthese der 1,2-*Isopropyliden*-geschützten Ribose **114**.

Nach der wässrigen Aufarbeitung wurde der erhaltene Rückstand in Methanol gelöst und katalytische Mengen Kaliumcarbonat zugegeben. Das gewünschte Produkt **114** konnte in einer Ausbeute von 69 % erhalten werden. Diese Ausbeute ist leicht höher als die berechnete Gesamtausbeute von 62 %, für die Synthese von Verbindung **114** über zwei Schritte. Außerdem konnte durch den Einsatz des Rohprodukts im zweiten Syntheseschritt ohne weitere Reinigung auf eine vollständige chromatographische Reinigung verzichtet werden.

Die Reaktionsbedingungen für die möglichen Synthesewege zur Darstellung der 3-O-methylierten Verbindung **113** sind in Abbildung 6.47 aufgeführt.



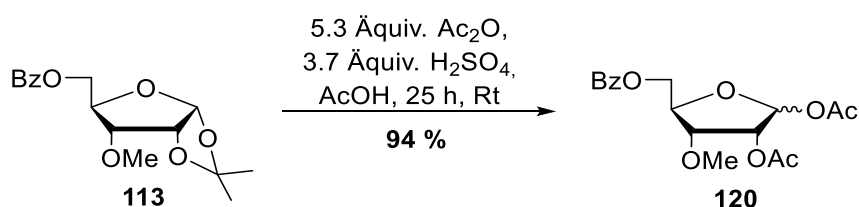
**Abb. 6.47:** Synthese der 1,2-*O*-Isopropyliden-3-*O*-methyl-5-*O*-benzoylribose **113** über zwei verschiedene Synthesewege ausgehend von Verbindung **114**. Der erste Syntheseweg erfolgte über drei Syntheseschritte mit einer Gesamtausbeute von 80 % (grün). Der zweite Syntheseweg erfolgte über zwei Schritte hat aber lediglich eine Gesamtausbeute von 54 % (blau).

Für die Synthese der methylierten Verbindung **113** wurde im ersten Schritt die 5-Position der *Isopropyliden*-geschützten Ribose **114** selektiv TBDMS-geschützt. Die selektive Silylschätzung erfolgte durch Zugabe von TBDMSCl in Pyridin.<sup>[162]</sup> Das TBDMS-geschützte Produkt **118** konnte in einer Ausbeute von 90 % erhalten werden. Für die selektive 5-Benzoylschätzung wurde Verbindung **114** in Dichlormethan gelöst und bei 0 °C Benzoylchlorid und Triethylamin zugetropft.<sup>[125]</sup> Das benzoylierte Produkt **119** konnte in einer Ausbeute von 83 % erhalten werden. Diese Ausbeute lag leicht unterhalb der Ausbeute der selektiven TBDMS-Schätzung. Die Methylierung der beiden unterschiedlich geschützten Verbindungen erfolgte nach den bereits zu Beginn dieses Abschnitts (Abb. 6.39 und Abb. 6.43) verwendeten Reaktionsbedingungen.<sup>[155]</sup> Es wurden die Derivate **118** und **119** in DMF gelöst und bei 0 °C Natriumhydrid zugegeben. Im Anschluss wurde für die Methylierung bei 0 °C Methyljodid langsam zugetropft. Es konnte dünnschichtchromatographisch für beide Reaktionen ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Die Methylierung des silylgeschützten Derivats **118** gelang mit einer sehr guten Ausbeute von 93 %, wohingegen die Methylierung des benzoylgeschützten Derivats **119** lediglich mit einer moderaten Ausbeute von 65 % erfolgte. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Benzoylgruppe unter den basischen Reaktionsbedingungen nicht stabil genug ist. Doch auch nachdem die eingesetzte Menge des Natriumhydrids halbiert wurde konnte keine Ausbeutesteigerung erzielt werden. Damit auch über die grüne Route das gewünschte benzoylierte und methylierte Derivat **113** dargestellt wird, sollte mit der TBDMS-geschützten Verbindung **118** ein Schutzgruppenaustausch an der 5-Position durchgeführt werden, um im Anschluss auch über diese Route die benzoylierte Verbindung **113**, zu erhalten.<sup>[163]</sup> Die TBDMS-Entschätzung erfolgte in THF mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) als Fluoridionendonator. Nach fünf Stunden konnte

dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet und die Reaktion wässrig aufgearbeitet werden. Für die Benzoylierung wurde der Rückstand in Dichlormethan gelöst und Triethylamin und Benzoylchlorid zugetropft. Das gewünschte Produkt **113** konnte in einer Ausbeute von 96 % erhalten werden.

Die Synthese der gewünschten Verbindung **113** konnte über beide angestrebten Syntheserouten erfolgreich durchgeführt werden. Das 3-O-methylierte Derivat **113** konnte über die Benzoyl-Route (Abb. 6.47, blau) in einer Gesamtausbeute von 54 % über zwei Schritte erhalten werden. Im Gegensatz dazu konnte bei der TBDMS-Route (Abb. 6.47, grün) eine Gesamtausbeute von 80 % über drei Syntheseschritte erzielt werden.

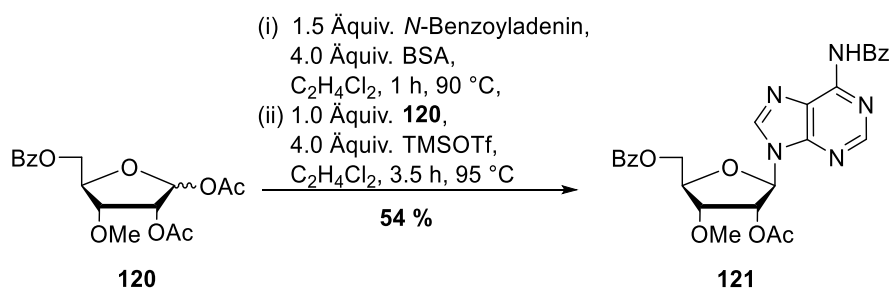
Der Schutzgruppenaustausch an der 1- und 2-Position sollte in Anlehnung an ein Protokoll von LE *et al.* erfolgen (Abb. 6.48).<sup>[126]</sup>



**Abb. 6.48:** Reaktionsbedingungen zur *Isopropyliden*spaltung und anschließender Acetylierung der 1- und 2-Position zur Darstellung von Verbindung **120**.

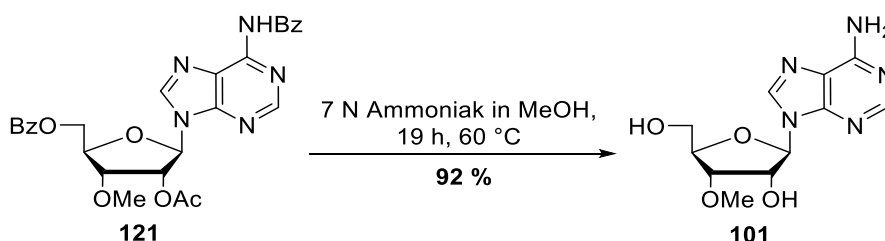
Die Abspaltung der *Isopropyliden*klammer erfolgte unter sauren Reaktionsbedingungen (Schwefelsäure und Essigsäure) und die Acetylergruppen wurden im gleichen Reaktionsschritt durch die Umsetzung von Verbindung **113** mit Essigsäureanhydrid in Essigsäure eingeführt. Die acetylierte Ribose **120** konnte mit einer Ausbeute von 94 % isoliert werden.

Die folgenden zwei Syntheseschritte zur Darstellung des 3'-OMe-Adenosins **101** erfolgten analog zu der Synthese des 3'-F-Adenosins **53** aus Abschnitt 6.1.1. Diese Reaktionsbedingungen für die Syntheseschritte sind in Abbildung 6.49 und Abbildung 6.50 dargestellt.



**Abb. 6.49:** Reaktionsbedingungen der *N*-Glykosylierung zur Darstellung des geschützten 3'-OMe-Adenosins **121** über die SILYL-HILBERT-JOHNSON-Methode.

Für die *N*-Glykosylierung wurde das *N*<sup>6</sup>-Benzoyladenin **69** in Dichlorethan suspendiert und im ersten Schritt durch Zugabe von BSA in ihr lipophiles und nucleophileres silyliertes Derivat überführt. Im Anschluss wurde zur aktivierten Base eine Lösung von der Ribose **120** in Dichlorethan zugetropft und unter Eiskühlung zusätzlich die Lewis-Säure TMSOTf zugegeben, um den acetylierten Zucker **120** zu aktivieren. Die Reaktion wurde zum Rückfluss erhitzt, bis dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet wurde. Das gewünschte  $\beta$ -Anomer **121** wurde in einer Ausbeute von 54 % erhalten. Diese Ausbeute liegt leicht unter der Ausbeute von 61 %, die bei der Synthese des 3'-F-Adenosins **68** erreicht wurde.



**Abb. 6.50:** Reaktionsbedingungen zur Entschützung der Verbindung **121** zur Darstellung des 3'-OMe-Adenosins **101**.

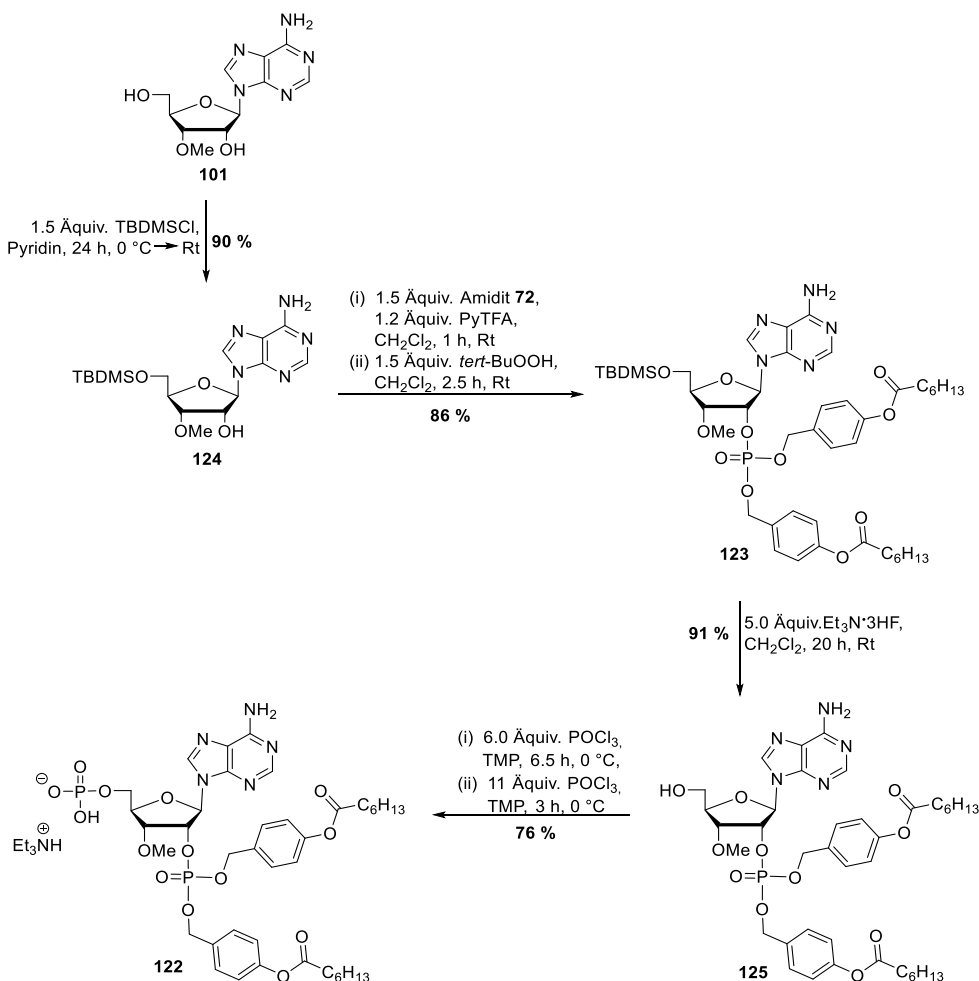
Für die Spaltung der drei Estergruppen unter basischen Bedingungen wurde das geschützte Adenosin **121** in 7 N Ammoniak in Methanol gelöst und bei 60 °C für 19 Stunden im Druckrohr gerührt. Die Spaltung aller Esterbindungen erfolgte mit einer sehr guten Ausbeute von 92 %. Damit konnte bei der Synthese des 3'-OMe-Derivats **101** eine etwas höhere Ausbeute erzielt werden, als für die Synthese des 3'-F-Derivats **53** erzielt wurde.

Insgesamt konnte das 3'-OMe-Adenosin **101** mit einer Gesamtausbeute von 38 % über sechs Syntheseschritte ausgehend von der kommerziell erhältlichen *Isopropyliden*-geschützten Ribose **114** erhalten werden. Im Vergleich dazu konnte bei der Synthese des 3'-F-Adenosins **53** lediglich eine Gesamtausbeute von 16 % über sechs Schritte erzielt werden. Beide Syntheserouten wurden mehrfach durchgeführt, wobei sich ein großer Vorteil für die Syntheseroute des 3'-OMe-Adenosins **114** zeigte, der darin bestand, dass bei dieser Route im Gegensatz zur Syntheseroute zur Darstellung des 3'-F-Adenosins **53** keine großen Ausbeuteschwankungen der einzelnen Syntheseschritte auftraten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass nicht nur die Gesamtausbeute für die Syntheseroute des 3'-OMe-Adenosins **114** höher als die Gesamtausbeute der Syntheseroute des 3'-F-Adenosins **53** ist, sondern dass diese Route auch bezüglich der Ausbeuten leichter zu reproduzieren ist. Inzwischen ist dieses Derivat **114** kommerziell erhältlich.

### 6.4.2 Synthese des 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(3'-OMe-Adenosin)-2',5'-diphosphats

Auch die Synthese des 3'-OMe-Diphosphats **122** ausgehend vom 3'-OMe-Adenosin **101** sollte in Analogie zur in Abschnitt 6.1.2 ausführlich beschriebenen Synthese des 3'-F-Diphosphats **49** erfolgen. Die Reaktionsbedingungen zu den vier Syntheseschritten sind in Abbildung 6.51 dargestellt.



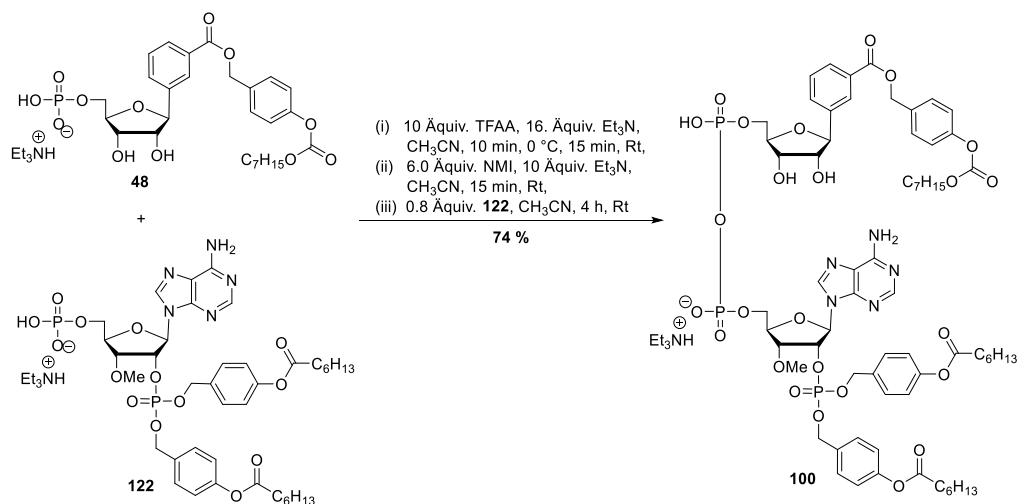
**Abb. 6.51:** Synthese des symmetrisch maskierten 2'-Monophosphats **123** ausgehend vom 3'-OMe-Adenosin **101**, mit anschließender TBDMS-Entschützung und 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung des Diphosphats **122**.

Die Silylschutzgruppe wurde an der 5'-Position durch den Einsatz des Silylierungsreagenz TBDMSCl in Pyridin eingeführt. Nach 24 Stunden Reaktionszeit bei Raumtemperatur konnte das selektiv an der 5'-Position silylierte Derivat **124** mit einer sehr guten Ausbeute von 90 % isoliert werden. Dabei konnte die Ausbeute nach erfolgter 5'-TBDMS-Schützung des 3'-F-Adenosins **53** von 71 % (Abschnitt 6.1.2, Abb. 6.14) deutlich übertroffen werden. Auch das 5'-O-TBDMS-3'-OMe-Adenosin **124** wurde mit dem gleichen symmetrischen Amidit **72** gekuppelt wie bereits das fluorierte Derivat **52** (Abb. 6.15). Für die Phosphoramidit-Kupplung an der 2'-Position des TBDMS-geschützten Adenosins **124** wurde dieses

in Dichlormethan gelöst und das Amidit **72** zugegeben. Im Anschluss wurde als Aktivator Pyridiniumtrifluoracetat zugegeben. Nachdem der Reaktionsansatz für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde ein vollständiger Umsatz via Dünnschichtchromatographie beobachtet. Für die Oxidation der gebildeten Phosphor-(III)-Spezies wurde im Anschluss *tert*-Buthylhydroperoxid zugegeben und die Reaktion für weitere 2.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach abschließender säulenchromatographischer Reinigung konnte das Monophosphat **123** mit einer Ausbeute von 86 % isoliert werden. Diese Ausbeute entspricht der nach der Phosphoramidit-Kupplung erreichten Ausbeute des fluorierten Monophosphats **51** von 87 % (Abb. 6.15). Für die Desilylierung wurde das Monophosphat **51** mit einem Überschuss an Triethylamin·Trihydrofluorid in Dichlormethan umgesetzt. Nachdem die Reaktion für 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und abschließender säulenchromatographischer gereinigt wurde, wurde das desilylierte Produkt **125** in einer Ausbeute von 91 % erhalten. Diese Ausbeute ist etwas höher als die bei der Desilylierung des 2'-Monophosphats **78** erzielten Ausbeute von 81 %. Die finale 5'-Phosphorylierung erfolgte wie bereits beim fluorierten 2'-Monophosphat **78** (Abschnitt 6.1.2) durch Zugabe von sechs Äquivalenten  $\text{POCl}_3$  bei 0 °C zu einer Lösung aus dem 2'-Monophosphat **125** in TMP. Da jedoch bei der Reaktionsverfolgung via RP-HPLC auch nach 6.5 Stunden noch kein vollständiger Umsatz erfolgt war und dieser zudem zu stagnieren schien wurden noch elf Äquivalente  $\text{POCl}_3$  zugegeben. Die Reaktion wurde weitere drei Stunden bei 0 °C gerührt bis ein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte. Aufgrund der gleichen Maskierungsverhältnisse, wie bei der fluorierten Verbindung **49** wurde das Reaktionsgemisch zum Beenden der Reaktion in eine eisgekühlte 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer-Lösung gegeben, um ein Abspalten der lipophilen Masken möglichst zu verhindern. Nach mehrfacher Reinigung mittels RP-18-Säulenchromatographie konnte das Diphosphat **122** mit einer Ausbeute von 76 % isoliert werden. Diese Ausbeute ist deutlich höher als die bei der Phosphorylierung der fluorierten Verbindung **78** erreichten Ausbeute von 49 %.

### 6.4.3 Kupplung zum 3'-OMe-MASTER-NAADP

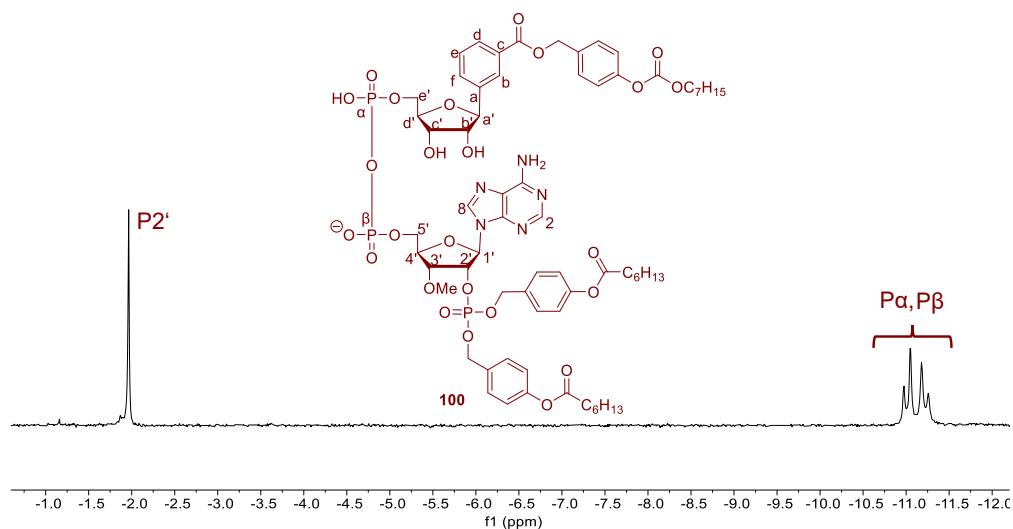
Die Kupplung des Monophosphats **48** mit dem Diphosphat **122** zum gewünschten Pyrophosphat **100** erfolgte analog zum bereits für die Synthese des 3'-F-MASTER-NAADP **42** genutzten Protokolls.



**Abb. 6.52:** Reaktionsbedingungen zur Kupplung der Monophosphate **48** und **122** zur Darstellung des 3'-OMe-MASTER-NAADPs **100**.

Im ersten Reaktionsschritt wurden TFAA und Triethylamin in Acetonitril für zehn Minuten bei 0 °C gerührt, bevor diese Reaktionslösung anschließend zu einer Lösung aus dem Monophosphat **48** in Acetonitril getropft wurde, um *in situ* dessen vollständig geschützte Verbindung zu erhalten. Durch die Zugabe des NMI und des Triethylamins wurde das vollständig geschützte und aktivierte Monophosphat gebildet. Dieses wird anschließend mit dem Diphosphat **122** zum Pyrophosphat **100** umgesetzt. Die Bildung des Pyrophosphats **100** wurde kontinuierlich mittels RP-HPLC verfolgt. Nachdem das Rohprodukt mehrfach säulenchromatographisch gereinigt wurde, konnte das Pyrophosphat **100** in einer Ausbeute von 74 % erhalten werden. Diese Ausbeute lag deutlich über der für die Kupplung der fluorierten Verbindung erzielten Ausbeute von 18 %. Dies ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den häufig durchgeführten Ionentausch zurückzuführen. Da beim 3'-F-MASTER-NAADP **42** nie alle Triethylammonium-Gegenionen vollständig ausgetauscht werden konnten, wurde beim 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** kein Ionentausch durchgeführt und das Produkt **100** mit Triethylammonium-Gegenionen für die Zelltests am UKE zur Verfügung gestellt.

In Abbildung 6.53 ist das <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum des isolierten 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **100** dargestellt.

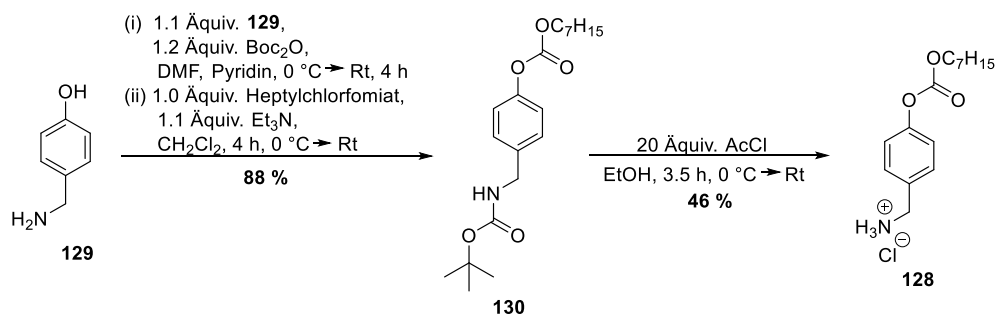


**Abb. 6.53:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** (600 MHz, 25 °C, DMSO- $d_6$ ).

Das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum zeigt alle für das 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** erwarteten charakteristischen Signale. Neben den Dubletts für das  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phosphoratom ist ein Singulett für die 2'-Phosphatgruppe mit einer für Monophosphate typischen Verschiebung zu erkennen. Auch die Verschiebung der beiden miteinander koppelnden Dubletts zwischen -10 ppm und -12 ppm ist charakteristisch für Pyrophosphate. In Kombination mit einer entsprechenden Analyse und Auswertung des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums und mit Hilfe der Massenspektrometrie konnte die Bildung der gewünschten Zielverbindung **100** bestätigt werden.

## 6.5 Synthese des 3'-OMe-MASTER-NADPs

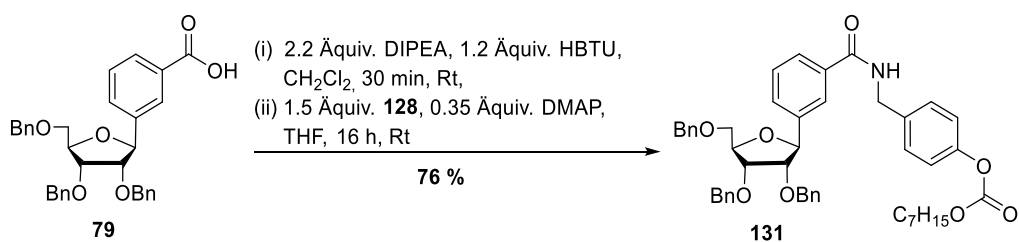
Als Referenzverbindung für die Zelltests sollte das korrespondierende 3'-OMe-MASTER-NADP **126** synthetisiert werden. Die Synthese des maskierten 3-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl-5'-monophosphat)-benzamid **127** erfolgte in Anlehnung an ein Protokoll von DEKIERT.<sup>[15]</sup>



**Abb. 6.54:** Syntheschema der Boc-Schätzung gefolgt von der Veresterung zur Darstellung von Verbindung **130** mit anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe zur Synthese des Carbons **128**.

Die Darstellung des Carbonats **128** erfolgte nach den in Abbildung 6.54 dargestellten Reaktionsbedingungen. Es wurde zunächst die Aminogruppe des 4-Hydroxybenzylamins **129** durch die Zugabe von Di-*tert*-butyldicarbonat und DMF in Pyridin mit einer Boc-Gruppe geschützt, um die Veresterung dieser mit dem Chlorformiat zu verhindern. Die Boc-geschützte Verbindung wurde anschließend zum Carbamat **130** umgesetzt. Eine Lösung des Heptylchlorformiats in Dichlormethan wurde bei 0 °C zugetropft. Das gewünschte Produkt **130** konnte in einer Ausbeute von 88 % über zwei Stufen erhalten werden. Die Ausbeute lag somit über den in Arbeiten von DEKIERT erreichten 57 %.<sup>[15]</sup> Im Anschluss erfolgte die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe zur Darstellung des Hydrochlorids **128** unter Verwendung von Acetylchlorid in Ethanol. Das Acetylchlorid wurde bei 0 °C zu einer Lösung aus dem Boc-geschützten Carbonat **130** in Ethanol getropft, wobei *in situ* HCl frei wurde, was zur säurekatalysierten Spaltung der Boc-Schutzgruppe führte. Nachdem dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet wurde, wurden die flüchtigen Bestandteile des Reaktionsgemisches unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **128** wurde jedoch lediglich in einer Ausbeute von 46 % erhalten. Die geringe Ausbeute im Gegensatz zu der in der Literatur angegebenen Ausbeute, ist darauf zurückzuführen, dass sich noch Rückstände vom Acetylchlorid im Kolben befanden, welches mit Wasser exotherm zu Essigsäure und Chlorwasserstoff reagiert. Beim Überführen des Rohprodukts wurde nicht unter Feuchtigkeitsausschluss gearbeitet. Diese stark sauren Bedingungen in Kombination mit Wärme führten wahrscheinlich teilweise zur Abspaltung der Carbonatmaske. Diese Vermutung konnte bestätigt werden, da neben dem gewünschten Produkt **128** auch 4-Hydroxybenzylamin **129** isoliert wurde.

Die Synthese des Carbonsäureamids **131** erfolgte nach einer Methode von STEGLICH mit einem speziell für die Peptidsynthese entwickelten Reagenz, dem 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HBTU).<sup>[164]</sup> Zudem wurde in Abweichung von der Vorschrift von DEKIERT anstelle des Triethylamins die Base Diisopropylethylamin (DIPEA) eingesetzt (Abb. 6.55).

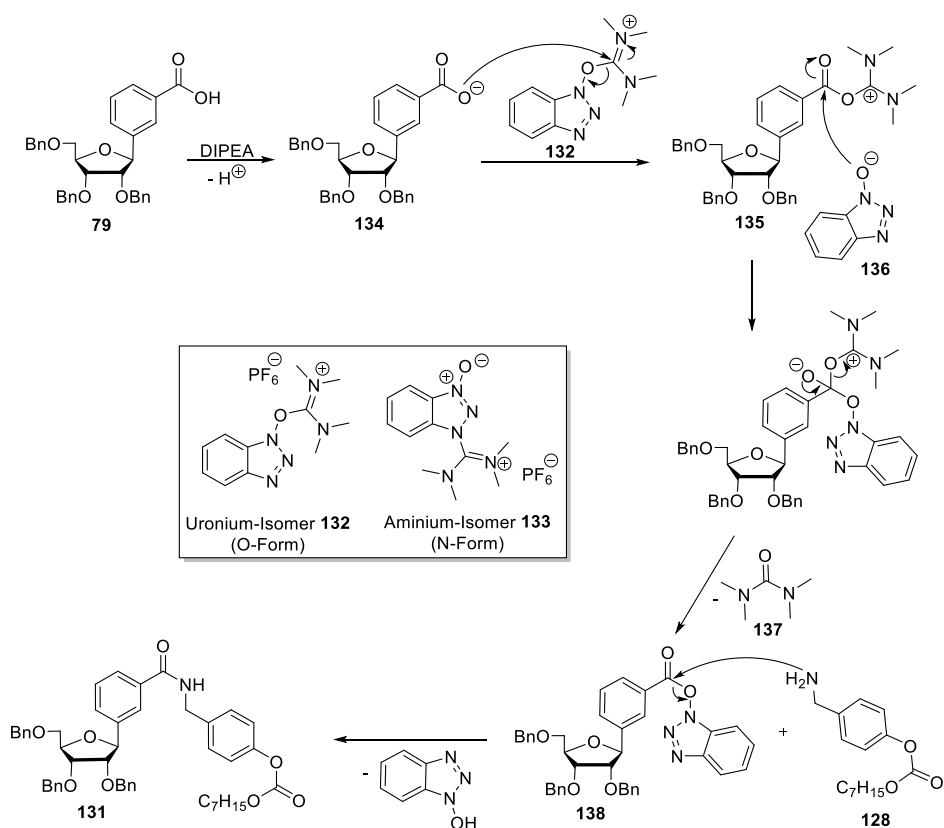


**Abb. 6.55:** Synthese des Carbonsäureamids **131**.

Die Benzoesäure **79** wurde in Dichlormethan gelöst und mit DIPEA und HBTU versetzt. Nach 30 Minuten Rühren bei Raumtemperatur wurde das Hydrochlorid **128** und

katalytische Mengen 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) zur Reaktionslösung gegeben. Die Aufarbeitung erfolgte nach 16 Stunden Rühren bei Raumtemperatur. Nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte eine Ausbeute von 76 % erreicht werden, die deutlich über den von DEKIERT angegebenen 48 % lag.<sup>[15]</sup>

Durch den Austausch der Basen konnte die Ausbeute von 48 % auf 76 % gesteigert werden, was darauf zurückzuführen ist, dass das Kupplungsreagenz HBTU in Abhängigkeit von der verwendeten Base in zwei unterschiedlich reaktiven Formen vorliegen kann.<sup>[165]</sup> Die Strukturen dieser beiden Formen sind in der Box in Abbildung 6.56 dargestellt.



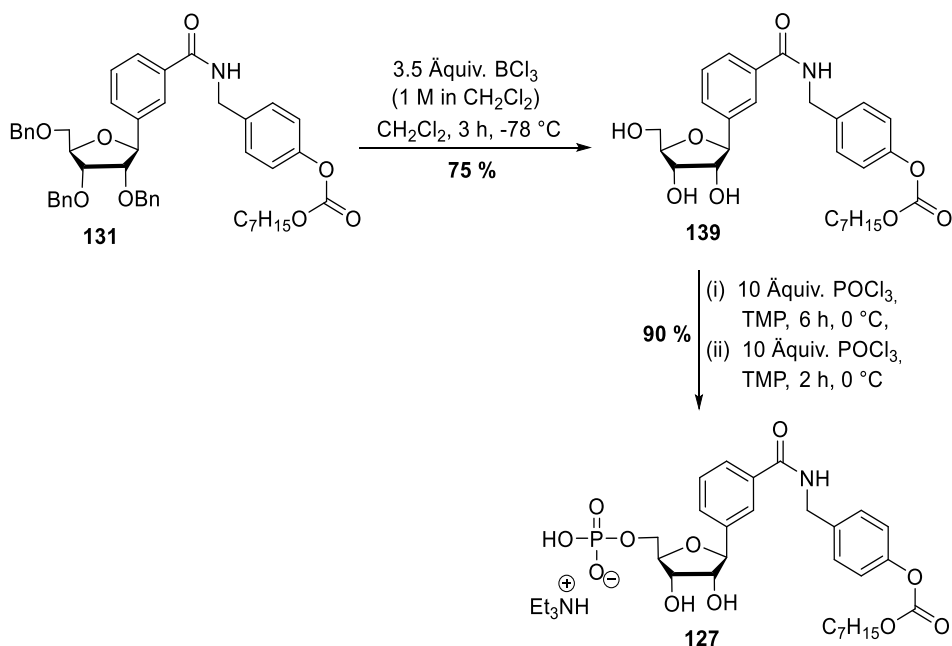
**Abb. 6.56:** Strukturen des reaktiveren Uronium-Isomers **132** und des Aminium-Isomers **133** in der Box sowie der mechanistisch dargestellte Aktivierungsprozess durch HBTU.<sup>[166,167]</sup>

Die Uronium-Isomere **132** sind die reaktiveren Kupplungsreagenzien im Gegensatz zu den Aminium-Isomeren **133**.<sup>[165,167]</sup> Bei der Aktivierung von Aminosäuren konnte von CARPINO *et al.* beobachtet werden, dass diese durch die Uroniumsalze **132** unter Reaktionsbedingungen, die eine O- zu N-Umlagerung vermieden, schneller als die isomeren Aminiumsalze **133** sind.<sup>[165]</sup> Durch die Zugabe von DIPEA als Base konnte diese Umlagerung nahezu vermieden werden. Im Gegensatz dazu führte die Zugabe von Triethylamin zur Isomerisierung der O- zur N-Form.<sup>[165]</sup>

Mechanistisch betrachtet greift die durch die Base deprotonierte Carboxylgruppe von Verbindung **134** das elektrophile Kohlenstoffatom vom HBTU **132** an, wobei sich der

OHBt-Ester **135** bildet. Im Anschluss greift das gespaltene Benzotriazol-*N*-Oxid **136** den OHBt-Ester **135** an, wodurch der Tetramethylharnstoff **137** und der Aktivester **138** entstehen. Dieser Aktivester **138** wird dann vom Amin **128** nucleophil am partiell positiven Carbonylkohlenstoff angegriffen und das Amid **131** bildet sich unter Spaltung des Benzotriazol-*N*-Oxids **136**.<sup>[167,168,169]</sup>

In Abbildung 6.57 sind die Reaktionsbedingungen zur Spaltung der Benzylschutzgruppen gefolgt von der selektiven 5'-Monophosphorylierung dargestellt, welche analog zu den Synthesebedingungen zur Synthese des C-glykosidischen Monophosphats **48** in Abschnitt 6.1.3 sind.<sup>[143]</sup>

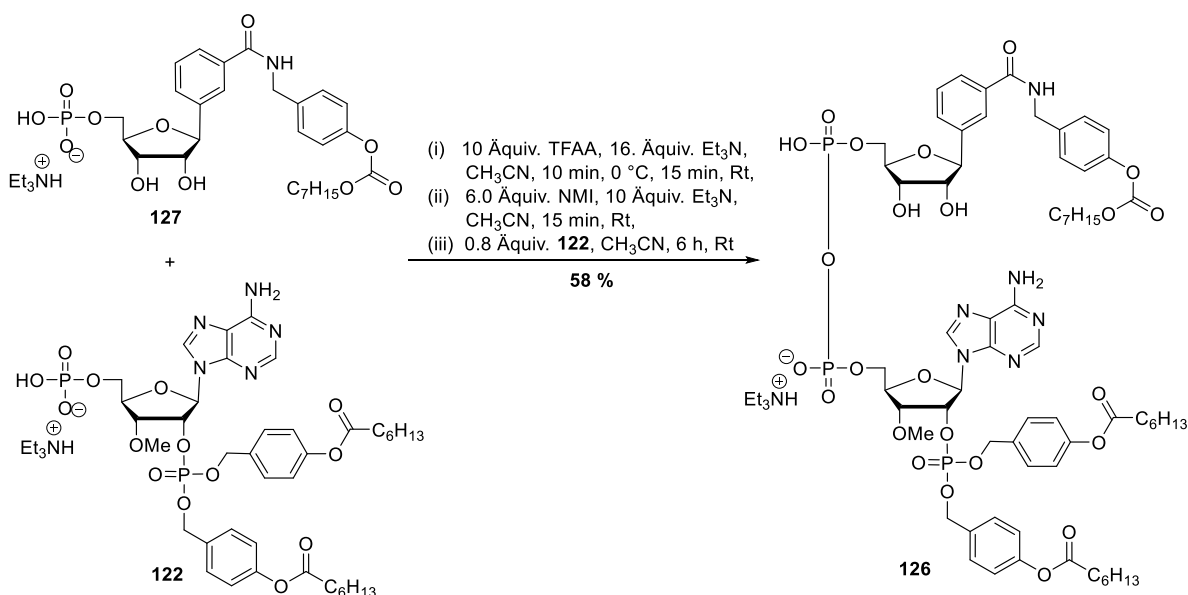


**Abb. 6.57:** Reaktionsbedingungen zur Spaltung der Benzylschutzgruppen zur Synthese des Nucleosids **139** gefolgt von der selektiven 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung des Monophosphats **127**.

Die Debenzylierung von Verbindung **131** gelang nach den in dieser Arbeit bereits für unterschiedliche, benzylierte Verbindungen verwendeten Reaktionsbedingungen unter Verwendung einer 1 M Bortrichlorid-Lösung in Dichlormethan mit einer guten Ausbeute von 75 %. Die anschließende regioselektive Phosphorylierung an der 5'-Position von Verbindung **139** erfolgte nach den in dieser Arbeit bereits beschriebenen Reaktionsbedingungen nach YOSHIKAWA.<sup>[143]</sup> Dazu wurde die Verbindung **139** in TMP gelöst und es wurden zunächst zehn Äquivalente  $\text{POCl}_3$  zugetropft. Da jedoch nach sechs Stunden noch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurden erneut zehn Äquivalente zum Reaktionsgemisch gegeben. Nachdem die Reaktion weitere zwei Stunden bei 0 °C gerührt wurde und ein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurde sie durch die Zugabe eines 1 M TEAB-Puffers beendet. Nach der Reinigung via automatisierter

RP-Säulenchromatographie konnte das Diphosphat **127** mit einer Ausbeute von 90 % erhalten werden. Diese Ausbeute liegt leicht unterhalb der von DEKIERT beschriebenen quantitativen Ausbeute.<sup>[15]</sup>

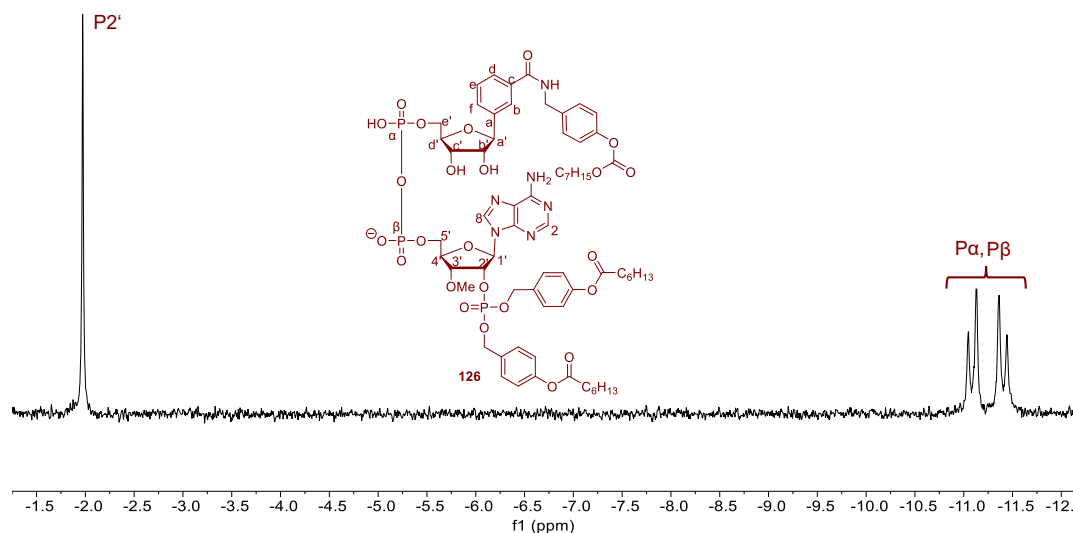
Im Anschluss sollte das erfolgreich synthetisierte Monophosphat **127** aktiviert und mit dem Diphosphat **122**, wie in Abbildung 6.58 dargestellt nach dem bereits bekannten Protokoll von MOHAMADY gekuppelt werden, um die Referenzverbindung **126** zu erhalten.<sup>[151]</sup> Die Synthese des 3'-OMe-Diphosphats **122** wurde bereits in Abschnitt 6.2.3 beschrieben.



**Abb. 6.58:** Reaktionsbedingungen zur Kupplung der Monophosphate **127** und **122** zur Synthese von 3'-OMe-MASTER-NADP **126**.

Für die Kupplung wurde das Monophosphat **127** durch die Zugabe von Triethylamin, TFAA und Methylimidazol in seine aktivierte Imidazolidatspezies überführt, damit die im Anschluss erfolgte Zugabe des Diphosphats **122** zur Bildung des NADP-Derivats **126** führt. Das Rohprodukt wurde, wie bereits in Abschnitt 6.3.3 für die Synthese des NAADP-Derivats **100** beschrieben, mehrfach säulenchromatographisch gereinigt. Das gewünschte NADP-Derivat **126** konnte mit einer Ausbeute von 58 % isoliert werden.

In Abbildung 6.59 ist das <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum dargestellt, in dem die Signale mit den für das Dinucleotid **126** charakteristischen chemischen Verschiebungen zu erkennen sind.

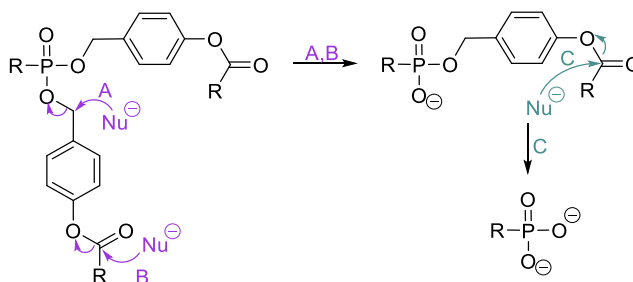


**Abb. 6.59:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum nach der erfolgreichen Kupplung zur Bildung des 3'-OMe-MASTER-NADPs **126** (600 MHz, 25 °C, DMSO- $d_6$ ).

Neben dem Singulett des 2'-Phosphats sind im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des Produkts **126** die für das Pyrophosphat typischen Dubletts mit den erwarteten Verschiebungen und Aufspaltungsmustern zu erkennen. Die Anwesenheit der beiden Dubletts mit deutlichem Dacheffekt und den für das Dinucleotid **126** charakteristischen Verschiebungen zwischen -10 bis -13 ppm bestätigt die erfolgreiche Kupplung (Abb. 6.59).

## 6.6 Hydrolyseverhalten von 3'-OMe-MASTER-NAADP und -NADP

Die beiden 3'-OMe-MASTER-Derivate **100** und **126** wurden hinsichtlich ihrer Stabilität und ihres Hydrolyseverhaltens untersucht. Zum einen wurde die chemische Stabilität dieser Verbindungen getestet, zum anderen die enzymatische Stabilität. Zur Bestimmung der enzymatischen Stabilität wurden das NAADP-Derivat **100** und das NADP-Derivat **126** mit Schweineleberesterase (PLE) inkubiert. Der genaue Mechanismus zur enzymatischen Spaltung wurde bereits in Abschnitt 4.3.1 beschrieben. Anstelle der enzymatischen Spaltung kann jedoch auch eine chemische Hydrolyse der AB-Masken erfolgen. Für die Bestimmung der chemischen Stabilität wurden die beiden Derivate **100** und **126** in physiologischem PBS-Puffer (pH = 7.3) inkubiert. Der Mechanismus der chemischen Spaltungskaskade am Beispiel der Acyloxybenzylester ist in Abbildung 6.60 dargestellt.<sup>[76,152]</sup>



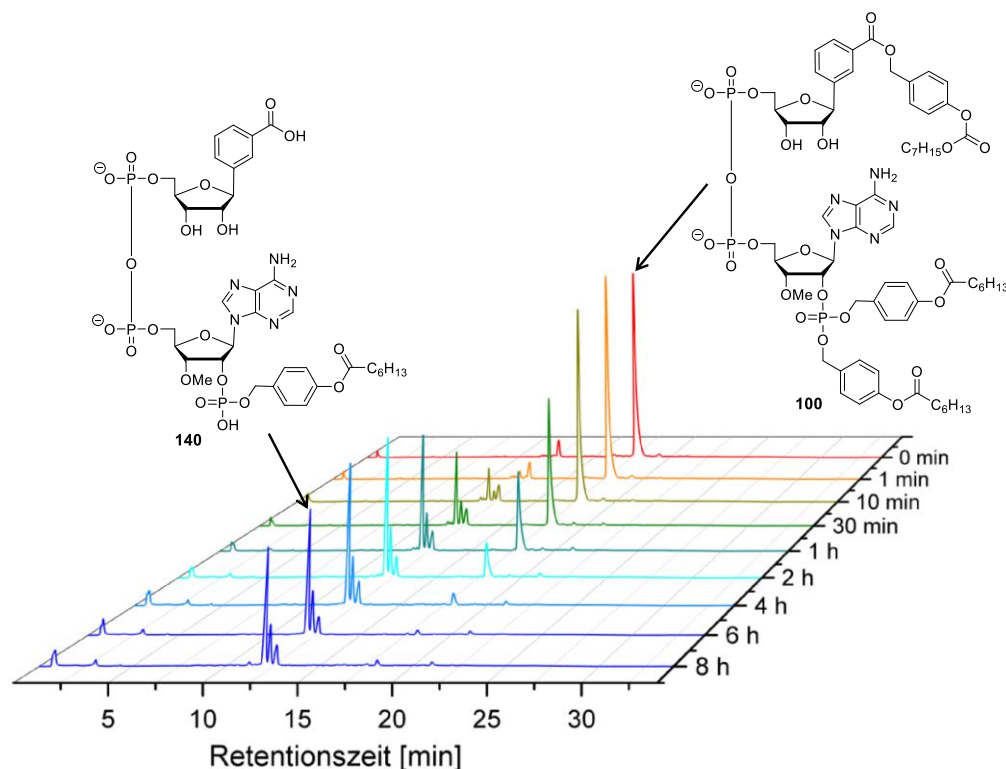
**Abb. 6.60:** Darstellung der chemischen Spaltungskaskade der Acyloxybenzylester (R = beliebiger unverzweigter Alkylrest) an einem Phosphat.<sup>[76,152]</sup>

Die chemische Spaltung der AB-Masken kann über zwei unterschiedliche Mechanismen ablaufen. Das ist der Grund, weshalb die Abspaltung der zweiten Maske nach dem nucleophilen Angriff deutlich langsamer abläuft als die der ersten AB-Maske. Bei der chemischen Hydrolyse der ersten AB-Maske erfolgt nicht nur der nucleophile Angriff am Carbonylkohlenstoff (Abb. 6.60 (B)), bei dem es zur Spaltung des Acylesters kommt, gefolgt von der 1,6-Eliminierung, sondern auch die nucleophile Substitution am Benzylkohlenstoffatom (Abb. 6.60 (A)). Der nucleophile Angriff am Benzylkohlenstoffatom und die damit verbundene Abspaltung der ersten AB-Maske erfolgt deutlich schneller als die Spaltung des Acylesters. Durch die Spaltung der ersten Maske entsteht eine negative Ladung am Phosphat, welche nun das Benzylkohlenstoffatom der zweiten AB-Maske gegen einen nucleophilen Angriff abschirmt. Aus diesem Grund wird die Spaltung der zweiten AB-Maske hauptsächlich durch den nucleophilen Angriff am Carbonylkohlenstoff (Abb. 6.60 (C)) initiiert.<sup>[76,152]</sup>

In Arbeiten von GOLLNEST *et al.* wurde die Spaltung der beiden Masken an unterschiedlich maskierten Triphosphaten untersucht.<sup>[76,87]</sup> Es wurde die chemische Stabilität unterschiedlicher TriPPPro-Verbindungen in physiologischem Phosphatpuffer (25 mM, PBS, *phosphate buffer saline*) bei einem pH-Wert von 7.3 untersucht. Außerdem wurden die verschiedenen *Prodrugs* mit Schweineleberesterase (PLE, *pig liver esterase*) inkubiert, um die enzymatische Stabilität dieser zu untersuchen. Bei diesen Studien wurde festgestellt, dass die Spaltung der Maskierungseinheit in PLE viel schneller erfolgte als in PBS, weshalb geschlossen wurde, dass die enzymatische Hydrolyse deutlich schneller abläuft als die chemische Hydrolyse.<sup>[76,87,152]</sup>

Um die enzymatische Spaltung der beiden AB-Masken und der ACB-Maske nachzuweisen, wurde eine Hydrolyse mit PLE durchgeführt. Die beiden MASTER-Verbindungen **100** und **126** wurden dafür in einer PLE-Lösung (PLE diente hier als Modellenzym) gelöst und anschließend in einem Thermomixer bei 37 °C inkubiert. Zu Beginn wurde ein Aliquot entnommen, welches als Nullprobe diente. Im Anschluss wurden nach definierten Zeitabständen weitere Aliquote entnommen. Diese wurden mit Acetonitril versetzt, fünf Minuten

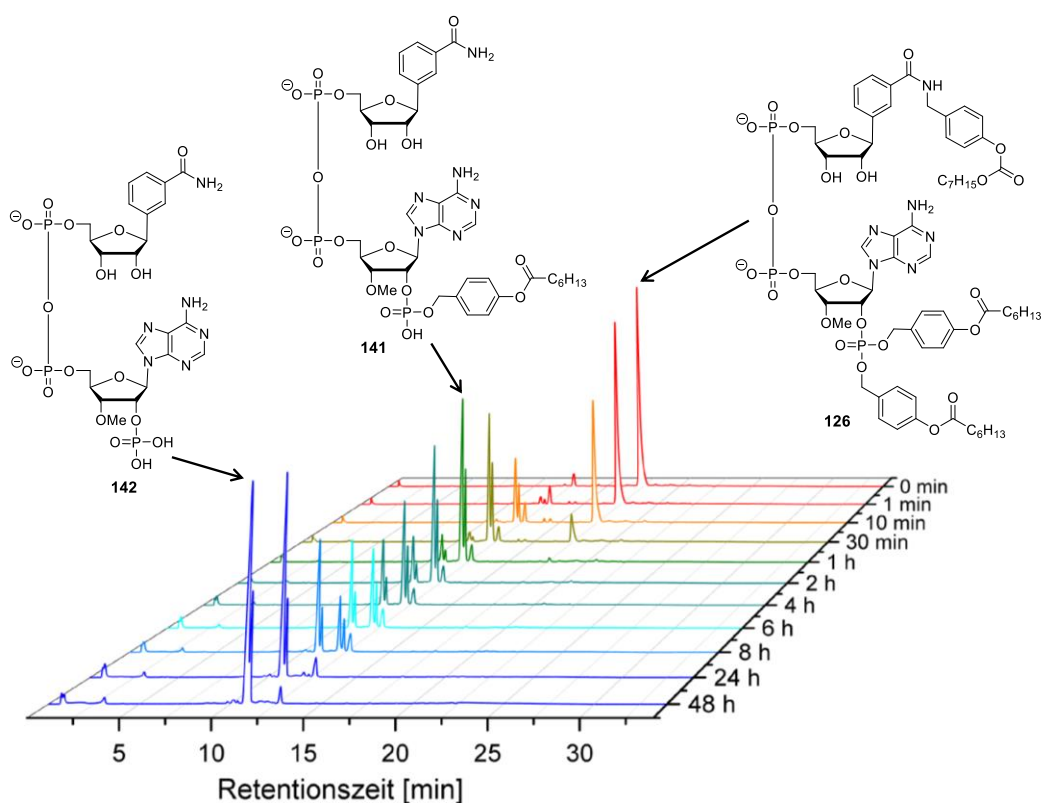
auf Eis gelagert und anschließend zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde über einen Spritzenfilter filtriert und mit Hilfe von RP-HPLC untersucht. In Abb. 6.61 und Abb. 6.62 sind die Verläufe der enzymatisch induzierten Hydrolysen als Wasserfalldiagramme dargestellt.



**Abb. 6.61:** Chromatogramme der enzymatischen Hydrolyse des 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **100** mit PLE.

Anhand des Wasserfalldiagramms (Abb. 6.61), ist deutlich zu erkennen, dass eine enzymatische Spaltung von zwei Maskierungseinheiten durch die PLE stattfindet. Nach etwa acht Stunden ist die nahezu vollständige enzymatisch induzierte Hydrolyse des NAADP-Derivats **100** zu beobachten. Bereits nach zehn Minuten kann die Bildung des Metaboliten **140** mit einer Retentionszeit von zwölf Minuten beobachtet werden. Die Identifizierung des während der enzymatischen Hydrolyse gebildeten Metaboliten **140** erfolgte mittels LC-MS. Die enzymatische Hydrolyse mit PLE ist lediglich ein Modell-experiment, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass die lipophilen Masken in den Zelltests deutlich schneller und vollständig gespalten werden, da bereits durch Zugabe von 100 nM des 3'-OMe-MASTER-NAADPs **100** nach wenigen Minuten die Auslösung von globalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalen in Jurkat WT T-Zellen beobachtet wurde. Um jedoch das metabolische Verhalten innerhalb der Zelle bestmöglich zu ermitteln bevor diese Verbindungen in Zellen getestet werden, haben sich in vergangenen Arbeiten in der Arbeitsgruppe von MEIER Hydrolysen im Zellextrakt bewährt. Jurkat Zellextrakt würde mit seiner Vielzahl an Enzymen und zusätzlichen Zellstrukturen eine bessere Umgebung darstellen als die PLE, um einen intrazellulären Metabolismus zu simulieren.

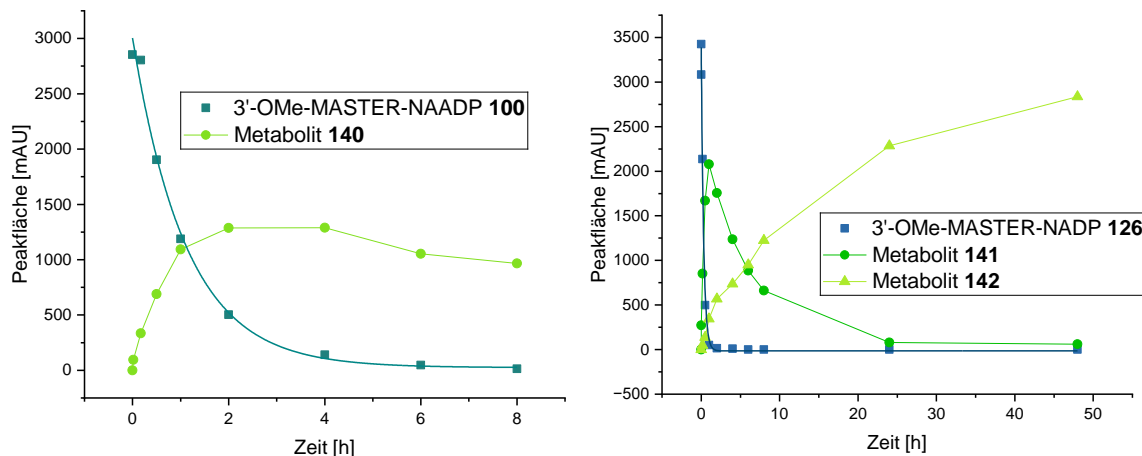
Abbildung 6.62 zeigt die enzymatisch induzierte Spaltung der Masken der Referenzverbindung **126**. Bei der Hydrolyse der Referenzverbindung **126** ist nach zehn Minuten die Bildung eines Intermediats **141** mit einer Retentionszeit von 12 Minuten zu beobachten, bei dem lediglich zwei Masken vollständig gespalten wurden. Schließlich konnte jedoch auch die Bildung des vollständig demaskierten-Derivats **142** mit einer Retentionszeit von 10.8 Minuten beobachtet werden, die mit der Hydrolyse des zuvor gebildeten Intermediats **141** einherging. Nach einer Stunde ist die vollständige Hydrolyse der Referenzverbindung **126** zu erkennen und nach 24 Stunden ist nur noch das vollständig demaskierte Derivat **142** zu finden, während das Intermediat **141** nicht mehr zu erkennen ist.



**Abb. 6.62:** Chromatogramme der enzymatischen Hydrolyse des 3'-OMe-MASTER-NADP-Derivats **126** mit PLE.

Anhand der Chromatogramme aus Abb. 6.61 und Abb. 6.62 wird ersichtlich, dass für die Verbindungen **100** und **126** eine enzymatische Spaltung induziert durch PLE erfolgte. Jedoch erfolgte die Spaltung des MASTER-NADPs **126** deutlich schneller als die des MASTER-NAADPs **100**.

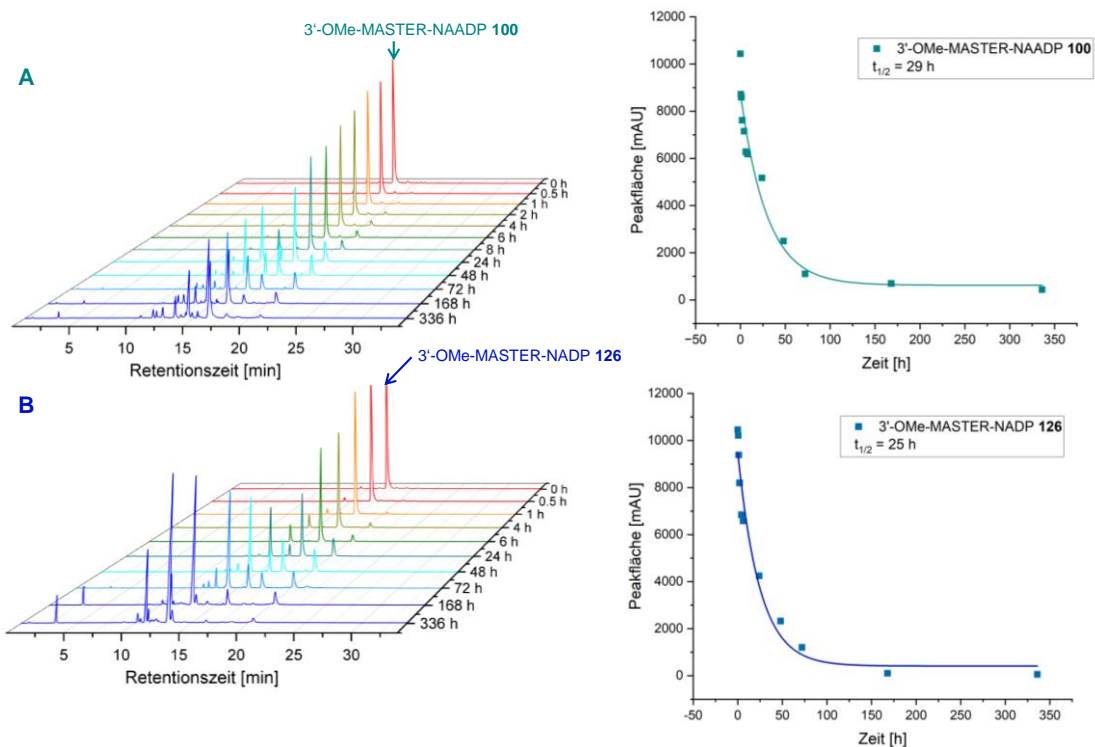
Abbildung 6.63 veranschaulicht den zeitlichen Verlauf der während der Hydrolyse veränderten Peakflächen der jeweiligen Signale der HPLC-Analyse.



**Abb. 6.63:** Diagramme der enzymatischen Hydrolysen von 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** (links) und 3'-OMe-MASTER-NADP **126** (rechts) in PLE.

Die Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeiten der vollständig maskierten Derivate **100** und **126** erfolgte durch die Aufzeichnung der Peakflächen der jeweiligen Signale, die mittels HPLC aufgenommen wurden, gegen die Hydrolysedauer. Die Auswertung erfolgte unter Verwendung des Programms OriginPro 2019. Es wurde die Annahme getroffen, dass die Hydrolyse exponentiell erfolgt und aus den Werten eine exponentielle Ausgleichskurve ermittelt werden kann, wodurch die Halbwertszeit berechnet wurde. Die ermittelten Halbwertszeiten der beiden Verbindungen **100** und **126** unterscheiden sich deutlich (Abb. 6.63). Das NAADP-Derivat **100** weist eine Halbwertszeit von 1.1 Stunden auf, während die Referenzverbindung **126** lediglich eine Halbwertszeit von 12 Minuten aufweist.

Um die chemische Stabilität der beiden Verbindungen zu untersuchen, wurden diese in PBS-Puffer (pH 7.3) gelöst und in einem Thermomixer bei 37 °C inkubiert, wodurch physiologische Bedingungen in Bezug auf die Salzkonzentration, die Temperatur und den pH-Wert imitiert werden sollten. Nachdem zu Beginn das Aliquot entnommen wurde, was als Nullprobe diente, wurden nach definierten Zeitabständen weitere Aliquote entnommen und die chemische Hydrolyse der beiden Verbindungen mit Hilfe von RP-HPLC verfolgt. In beiden HPL-Chromatogrammen ist die chemische Hydrolyse der Verbindungen über die Zeit dargestellt (Abb. 6.64, A und B). Nach einer Inkubationszeit von 336 Stunden wurde eine nahezu vollständige Hydrolyse des 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** festgestellt. Das 3'-OMe-MASTER-NADP **126** hingegen ist bereits nach 168 Stunden vollständig hydrolysiert.

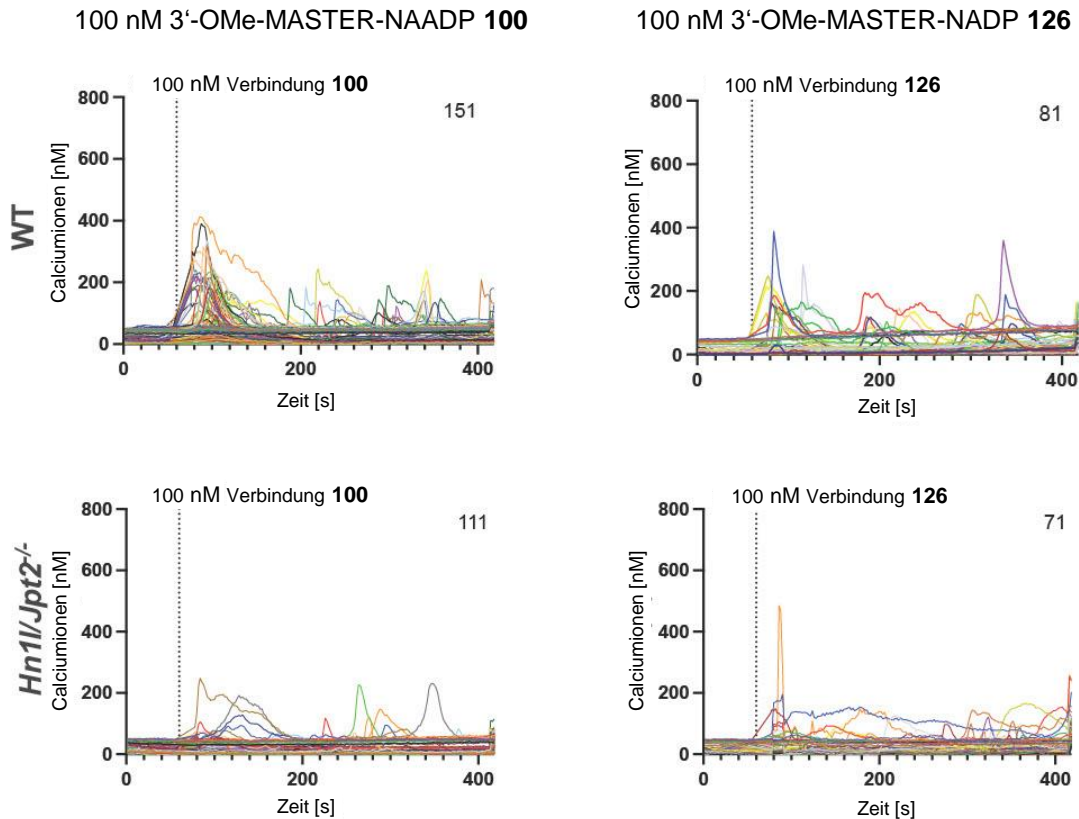


**Abb. 6.64:** Chromatogramme der chemischen Hydrolyse von 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** (A) und 3'-OMe-MASTER-NADP **126** (B) in PBS-Puffer und deren zugehörigen Zerfallsdiagramme.

Für die Ermittlung der Halbwertszeiten wurde eine UV/Vis-Detektion von 270 nm gewählt. Mit zunehmender Hydrolysedauer nimmt die Peakfläche des 3'-OMe-MASTER-NAADPs **100** mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 29$  h (Abb. 6.64, A, Diagramm rechts) ab. Im Vergleich dazu beträgt die Halbwertszeit der chemischen Hydrolyse der Referenzverbindung **126** 25 Stunden. Für beide Verbindungen kann aus den ermittelten Halbwertszeiten auf eine ausreichende chemische Stabilität unter physiologischen Bedingungen geschlossen werden.

## 6.7 Biologische Tests von 3'-OMe-MASTER-NAADP und 3'-OMe-MASTER-NADP

Im Anschluss an die Synthese des 3'-OMe-MASTER-NAADPs **100** und der Referenzverbindung **126** wurde die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Aktivität dieser beiden Verbindungen in der Forschungsgruppe von GUSE am UKE in Jurkat WT-Zellen untersucht. Die Ergebnisse der ersten Messungen sind in Abbildung 6.65 dargestellt.



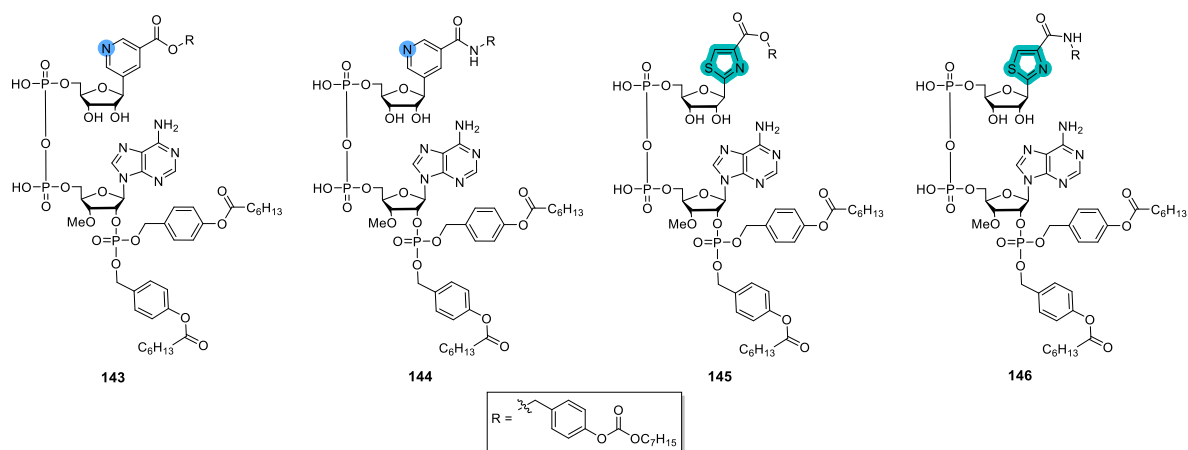
**Abb. 6.65:** Die globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalübertragung wurde in Jurkat WT T-Zellen gemessen mit 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** (100 nM) oder 3'-OMe-MASTER-NADP **126** (100 nM). Die Zellen wurden mit Fura-2-AM beladen, bei 37 °C und SOCE wurde durch die Vorinkubation mit 50  $\mu\text{M}$  Synta66 für fünf Minuten vor der Bildgebung blockiert.

Alle Zellen wurden für die Experimente mit Fura-2-AM beladen und mittels  $\text{Ca}^{2+}$ -Bildgebung auf globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale untersucht. Alle Messungen wurden bei 37 °C durchgeführt. Die Zellen wurden vor der Bildgebung mit 50  $\mu\text{M}$  Synta66 inkubiert, um SOCE zu blockieren. Es konnte beobachtet werden, dass durch die Zugabe von 100 nM 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** globale  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale in Jurkat WT T-Zellen ausgelöst werden. Im Gegensatz dazu ist zu beobachten, dass das 3'-OMe-MASTER-NADP **126** nur in einer Minderheit von Zellen  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale auslöst. Es wurden zusätzlich für die Analyse der globalen  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale Hn11/Jpt2<sup>-/-</sup> Jurkat T-Zellen verwendet. Es handelt sich um Jurkat T-Zellen, denen die Expression des NAADP-Bindeproteins (HN1L/JPT) fehlt. Wie bereits in

Abschnitt 4.2.4 beschrieben spielt das NAADP-Bindeprotein HN11/Jpt2 in T-Lymphozyten eine ausschlaggebende Rolle bei der  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus dem ER. Das NAADP bindet an das Bindeprotein, welches anschließend an den Ryanodinrezeptor bindet wodurch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung initiiert wird. Aus diesem Grund wurden, wie bereits von MÖCKL *et al.* am 3'-F-MASTER-NAADP **42** beschrieben, CRISPR-Cas9-Knock-out von Hn11/Jpt2 verwendet.<sup>[74]</sup> Das MASTER-NAADP **100** als auch das MASTER-NADP **126** induzierten in Hn11/Jpt2<sup>-/-</sup> Jurkat T-Zellen nur wenige geringfügige und vorübergehende  $\text{Ca}^{2+}$ -Signale. Hn11/Jpt2<sup>-/-</sup> Jurkat T-Zellen reagieren auf das 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** in einer vergleichbaren Weise wie WT T-Zellen auf die Referenzverbindung **126** reagieren. Dies bestätigt, dass das 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** den endogenen Signalweg des NAADPs zu  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung in T-Zellen nachahmt.

Bei diesen ersten biologischen Untersuchungen wurde festgestellt, dass das 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** sehr ähnliche Ergebnisse in Jurkat WT T-Zellen liefert wie die zuvor synthetisierte und untersuchte 3'-F-MASTER-NAADP-Verbindung **42**.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde das 3'-OMe-Monophosphat **122**, welches bei der Kupplung zum 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivat **100** und der Kupplung zur Referenzverbindung **126** als unterer Baustein fungierte im größeren Maßstab erneut synthetisiert. Dieser Baustein **122** wurde in Kooperation mit HOFMANN genutzt um zwei weitere 3'-OMe-MASTER-Derivate und deren jeweilige Referenzverbindung zu synthetisieren.<sup>[154]</sup> Die Strukturen der vier neuartigen MASTER-Derivate sind in Abbildung 6.66 dargestellt.



**Abb. 6.66:** Struktur des Pyridin-3'-OMe-MASTER-NAADPs **143** und des analogen NADP-Derivats **144** (links). Struktur des Thiazol-3'-OMe-MASTER-NAADPs **145** und des analogen NADP-Derivats **146** (rechts). Die strukturellen Modifikationen im Vergleich zum 3'-OMe-MASTER-Derivat **100** sind jeweils farbig markiert.

Die vier oberen Bausteine wurden in Arbeiten von HOFMANN synthetisiert und an das 3'-OMe-Monophosphat **122** gekuppelt.<sup>[154]</sup> Die Unterschiede dieser Verbindungen zu den 3'-OMe-MASTER-Derivaten **100** und **126** sind farbig markiert (Abb. 6.66). Nach der

erfolgreichen Kupplung durch HOFMANN wurde auch die  $\text{Ca}^{2+}$ -freisetzende Aktivität dieser Verbindungen in der Forschungsgruppe von GUSE in Jurkat WT-Zellen untersucht. Dabei konnte die calciumfreisetzende Wirkung des Pyridin-Derivats **143** bestätigt werden.<sup>[154]</sup>

## 6.8 Synthese der MeNV-3'-OMe-MASTER Verbindungen

Aus dem Grund, dass das 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivat **100** vergleichbare Ergebnisse zum 3'-F-MASTER-NAADP-Derivat **42** in den biologischen Testungen lieferte und die 3'-OMe-Verbindungen synthetisch leichter zugänglich waren, sollte die Synthese von unterschiedlich maskierten 3'-OMe-MASTER-Derivaten erfolgen. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit sollte der Schwerpunkt auf der Totalsynthese von unterschiedlich maskierten, membranpermeablen 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivaten liegen. Diese Derivate werden aus einer Kombination der bereits verwendeten bioreversiblen Masken und neu eingeführten photolabilen Masken bestehen. Die Freisetzung der bisher verwendeten bioreversiblen Masken erfolgt unspezifisch durch Enzyme und Nucleophile in der Zelle und ist daher zeitlich und räumlich nicht kontrollierbar. Durch den Einsatz der photolabilen Masken bietet sich die Möglichkeit, sowohl den Zeitpunkt als auch den Ort der Freisetzung des jeweiligen demaskierten NAADP-Derivats durch die Spaltung der Photomasken durch Licht in der Zelle zu kontrollieren. Ein weiterer Vorteil durch die Kombination der beiden Maskenkonzepte ist der dadurch hervorgerufene „lock-in“-Effekt. Durch die intrazellulären Enzyme werden die bioreversiblen Schutzgruppen nach passiver Diffusion ins Zellinnere gespalten. Dadurch kann das Diffusionsgleichgewicht zugunsten einer intrazellulären Akkumulation gestört werden, da die Rückdiffusion durch die Bildung geladener Spezies nach enzymatischer Spaltung der Masken unter physiologischen Bedingungen in die extrazelluläre Matrix erschwert bzw. verhindert wird.<sup>[170,171]</sup>

Der Vorteil der konvergenten Totalsynthese von MASTER-NAADP-Derivaten wird nun deutlich. In der Vergangenheit wurde daran gearbeitet, gut reproduzierbare Synthesen der modifizierten, unmaskierten oberen und unteren Bausteine zu entwickeln, die anschließend in größerem Maßstab synthetisiert werden können, um sie im kleineren Ansatz wie in einem Baukastensystem, mit unterschiedlichen Masken zu maskieren und im letzten Syntheseschritt die maskierten „Bausteine“ (das jeweilige C-glykosidische Monophosphat und das maskierte Adenosin-2',5'-diphosphat) zu koppeln.

Im Folgenden sollten die MASTER-Derivate, wie bereits zu Beginn dieses Abschnitts erwähnt, mit einer Kombination aus enzymatisch spaltbaren und photolabilen Masken synthetisiert werden. Dafür sollte im ersten Schritt eine der beiden lipophilen Masken am 2'-Phosphat des MASTER-Derivats gegen eine photospaltbare Gruppe ausgetauscht

werden. Um die fehlende lipophile Maskierung am 2'-Phosphat auszugleichen, sollte die verbleibende lipophile Maske an der 2'-Position dahingehend modifiziert werden, dass das Molekül möglichst lipophil genug ist. Dafür wurden die logP-Werte des bestehenden bereits synthetisierten dreifach lipophil maskierten 3'-OMe-MASTER-NAADPs-Derivats **100** berechnet und die Maskierung der 2'-Position so angepasst, dass sich der logP-Wert dem bereits bestehenden 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** möglichst anpasst, da die passive Diffusion dieser Verbindung bereits durch Zelltests bestätigt werden konnte.

Die Einführung einer zusätzlichen lipophilen Maske zur Steigerung der Lipophilie dieser Moleküle, am Pyrophosphat-Rückgrat wurde bereits von DEKIERT ausgeschlossen, um das Pyrophosphat nicht zu destabilisieren.<sup>[15]</sup> Da in Arbeiten von SCHNEIDER bei der Synthese bioreversibel-maskierter *caged* ADPR-Derivate diese Aussage nochmals Bestätigung fand, wurde auch in dieser Arbeit das Einführen einer lipophilen Maske am Pyrophosphat nicht in Erwägung gezogen. SCHNEIDER beschreibt, dass der durch die Maskierung entstandene Phosphatriester durch das Fehlen seiner negativen Ladung eine höhere chemische Labilität gegenüber Nucleophilen aufweist, was die Stabilität des Moleküls und seine Synthese signifikant beeinflusste.<sup>[102]</sup>

Die berechneten logP-Werte sind in Abhängigkeit ihrer pH-Werte in Tab. 6.3 dargestellt.

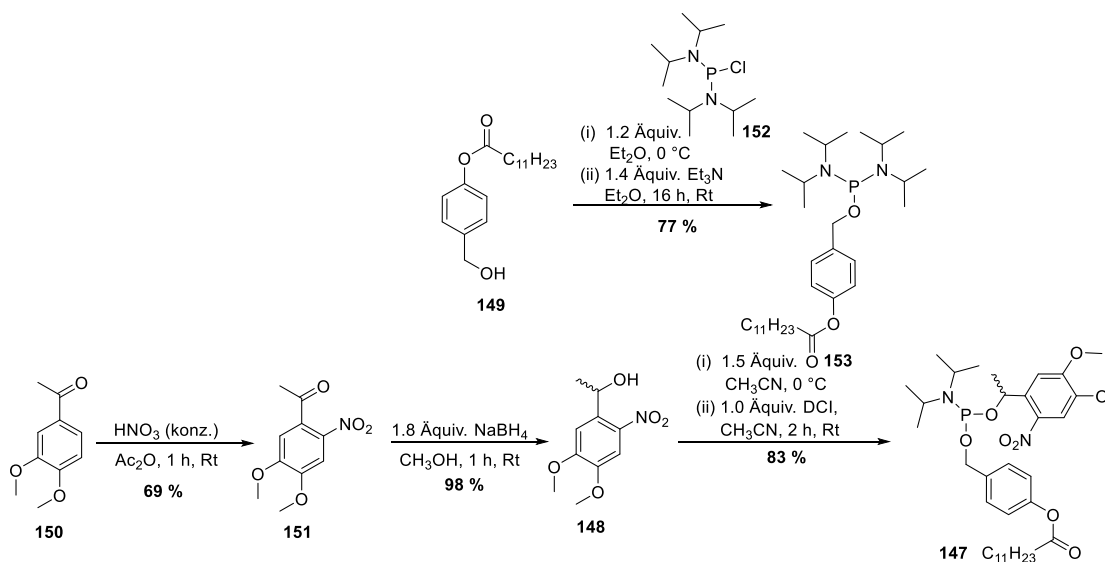
**Tab. 6.3:** Berechnete logP-Werte für unterschiedliche Masken und Kettenlängen der AB-Maske am NAADP angegeben für vier verschiedene pH-Werte.

Maskierung am 2'-Phosphat	berechnete logP-Werte			
	pH 6	pH 6.5	pH 7	pH 7.5
<b>zweimal C<sub>6</sub>-AB</b>	6.99	6.91	6.88	6.87
<b>einmal C<sub>11</sub>-AB/einmal MeNV</b>	7.17	7.09	7.06	7.05

Die Berechnung der logP-Werte ist nicht uneingeschränkt zuverlässig, weshalb sie in dieser Arbeit lediglich als Orientierung dienen. Der errechnete logP-Wert bei einem pH-Wert von 7.5 für das bereits synthetisierte 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivat **100** betrug 6.87. Da diese Verbindung **100** in biologischen Tests bereits ihre Fähigkeit zur Zelldiffusion unter Beweis gestellt hat, wurde für die neue Verbindung eine lipophile Maske gewählt, bei der der logP-Wert ähnlich ist. Aus Tabelle 6.3 geht hervor, dass die MeNV-Maske als photolabile Maske gewählt wurde. In Kombination mit einer C<sub>11</sub>-AB-Maske konnte ein logP Wert von 7.05 (pH 7.5) ermittelt werden, der dem berechneten Wert für das 3'-OMe-MASTER-Derivat **100** ähnelt.

### 6.8.1 Synthese des MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADPs

Die Synthese des asymmetrische Amidits **147** erfolgte nach einem Syntheseverfahren,<sup>[15,102,103,152]</sup> das bereits in der Arbeitsgruppe von MEIER ausführlich diskutiert wurde. Wie in Abbildung 6.67 dargestellt wurden dafür der Alkohol **148** und der Ester **149** synthetisiert, um aus diesen Bausteinen über zwei Schritte das asymmetrische Amidit **147** zu synthetisieren.



**Abb. 6.67:** Synthese des asymmetrischen Amidits **147** ausgehend vom Ester **149**.

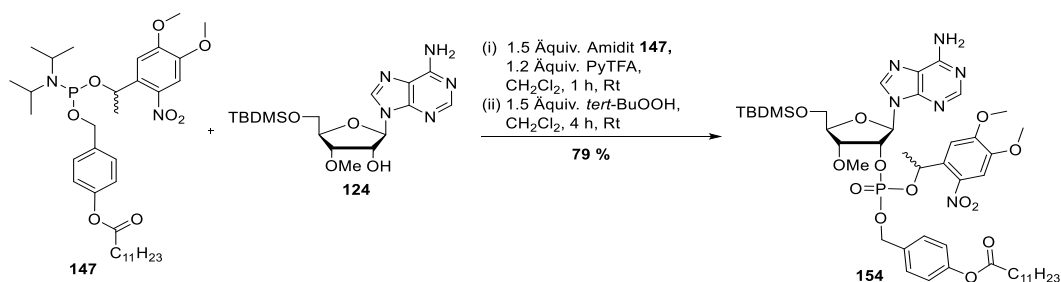
Die Synthese des Esters **149** erfolgte nach einem bereits etablierten und häufig verwendeten Protokoll zur Synthese verschiedener Acyloxybenzylester. Dieses wurde von JESSEN und SCHULZ<sup>[84]</sup> etabliert und von GOLLNEST<sup>[87]</sup> und WITT<sup>[152]</sup> modifiziert. Die Ausbeute sowie die analytischen Daten stimmen mit den Literaturangaben überein.<sup>[152]</sup>

Die Darstellung des Alkohols **148** erfolgte nach einem Protokoll, welches von JESCHIK<sup>[103]</sup> etabliert und im Anschluss leicht von SCHNEIDER<sup>[102]</sup> modifiziert wurde, bei dem die kommerziell erhältliche Ausgangsverbindung **150** zunächst zum Keton **151** nitriert und anschließend mit Natriumborhydrid reduziert wird.<sup>[103]</sup> Die Ausbeuten und die analytischen Daten der synthetisierten Verbindungen **151** und **148** stimmen mit den Angaben aus der Literatur überein.<sup>[103,172]</sup>

Nachdem die beiden Alkohole **148** und **149** synthetisiert wurden, wurde das asymmetrische Amidit **147** über zwei Stufen analog zu der Vorschrift von DEKIERT synthetisiert.<sup>[15]</sup> Es wurde zuerst der AB-Alkohol und im Anschluss die Phosphatmaske an das Amid gekuppelt, um unerwünschte Spaltungen durch Licht im Vorfeld zu vermeiden. Dadurch, dass erst die AB-Maske an das kommerziell erhältliche Bis(*N,N*-diisopropylamino)chlorphosphoramidit **152** gekuppelt wird, muss erst im zweiten Kupplungsschritt unter Lichtausschluss gearbeitet werden. Im ersten Schritt wurde zunächst das Chloratom des Amidits **152** durch

den Alkohol **149** ausgetauscht. Nachdem die Reaktion nach 16 Stunden beendet wurde, konnte das Produkt **153** nach säulenchromatographischer Reinigung mit Zusatz von Triethylamin im Laufmittel, um die schwachen aziden Eigenschaften des verwendeten Silicagels auszugleichen, mit einer Ausbeute von 77 % erhalten werden. Auch im Rahmen der Charakterisierung des Amidits **153** ist zu beachten, dass für die NMR-spektroskopische Untersuchung das Lösungsmittel ( $\text{CDCl}_3$ ) vor dem Lösen mit basischem Aluminiumoxid behandelt wird. Problematisch bei diesem ersten Schritt zur Synthese des Amidits **153** war, dass bei mehrfacher Durchführung dieses Syntheseschrittes nicht wie in diesem Fall ausschließlich das Amidit mit einer AB-Maske entsteht, sondern auch zu einem geringen Anteil das Amidit mit zwei AB-Masken. Da das Amidit selbst unter den leicht sauren Bedingungen bei der säulenchromatographischen Reinigung nicht sehr stabil ist, ist es keine Option trotz Zugabe von Triethylamin das Amidit mehrfach säulenchromatographisch zu reinigen. Sobald ein unpolareres Laufmittelgemisch gewählt wurde, konnte statt einer besseren Trennung der beiden während der Reaktion entstandenen Amidite zusätzlich die Bildung des Amidats beobachtet werden. Da jedoch das Amidit **153** im folgenden Syntheseschritt im Überschuss eingesetzt wird, wurde die Bildung des unerwünschten Nebenprodukts, welche jedoch nicht bei jedem Syntheseversuch beobachtet werden konnte, in Kauf genommen und das Amidit **153** in diesen Fällen leicht verunreinigt im nächsten Syntheseschritt eingesetzt. Im zweiten Schritt konnte das asymmetrische Amidit **147** nach der Aktivierung mit DCI und dem Umsatz mit der Photomaske **148** in einer guten Ausbeute von 83 % isoliert werden.

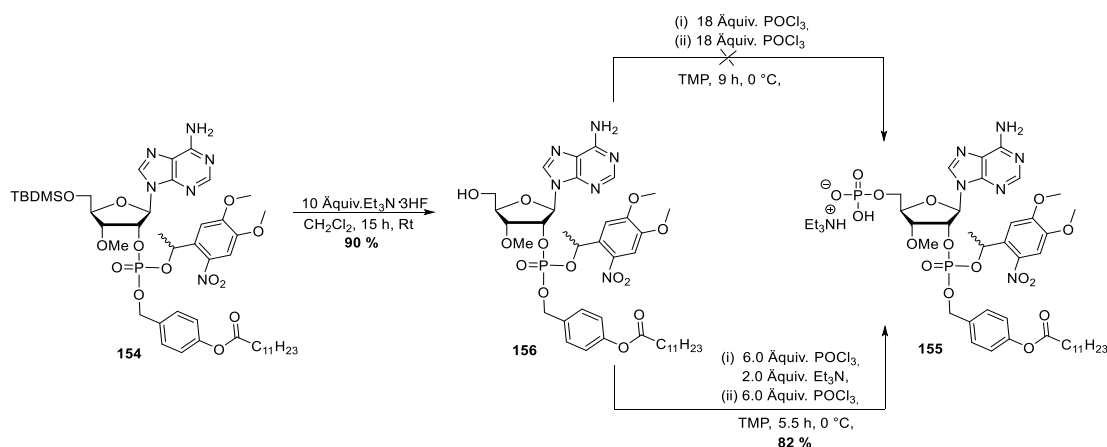
Im Anschluss wurde das asymmetrische Amidit **147** nach dem bereits in Abschnitt 6.1.2 beschriebenen Protokoll an die 2'-Position des TBDMS-geschützten Adenosins **124** gekuppelt (Abb. 6.68).



**Abb. 6.68:** Synthese des asymmetrisch geschützten 2'-Monophosphats **154**.

Die Phosphoramidit-Kupplung erfolgte mit PyTFA als Aktivator. Nachdem das Reaktionsgemisch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das während der Kupplung gebildete 2'-Phosphit durch die Zugabe von *tert*-Butylhydroperoxid zum 2'-Phosphat **154** oxidiert. Das gewünschte Produkt konnte mit einer Ausbeute von 79 % erhalten werden.

Nach der erfolgreichen 2'-Phosphatkupplung folgte die Spaltung der 5'-TBDMS-Schutzgruppe und die Phosphorylierung dieser Position nach YOSHIKAWA, wie in Abbildung 6.69 dargestellt.<sup>[143,144]</sup>

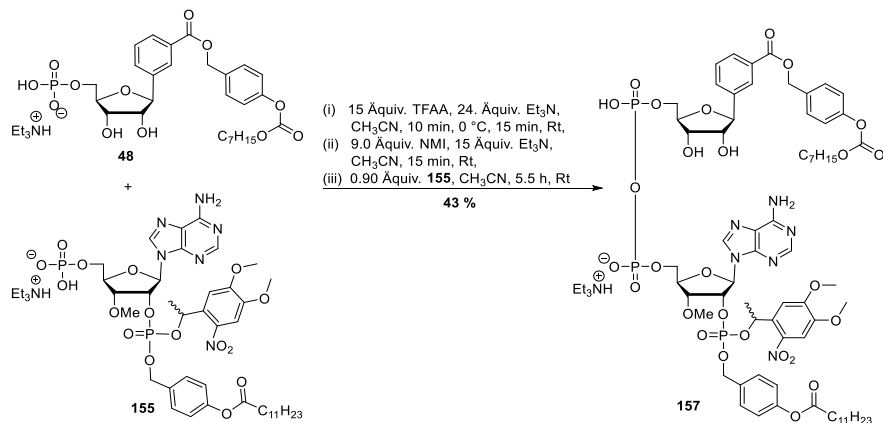


**Abb. 6.69:** Reaktionsbedingungen zur Spaltung der 5'-TBDMS-Gruppe gefolgt von der selektiven 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung des Monophosphats **155**.

Für die Desilylierung wurde die Verbindung **154** analog zu der in Abschnitt 6.1.2 durchgeführten Silylspaltung mit einem Überschuss an Triethylamin·Trihydrofluorid versetzt. Bei dieser Reaktion wurde im Gegensatz zu der Reaktion im Abschnitt 6.1.2 die doppelte Menge an Triethylamin·Trihydrofluorid zugegeben, bis ein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von Silicagel beendet. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **156** in einer Ausbeute von 80 % erhalten werden. Im Anschluss erfolgte die Phosphorylierung der 5'-Hydroxygruppe, bei der das Monophosphat **156** in Trimethylphosphat (TMP) gelöst und der Reaktionsansatz auf 0 °C gekühlt wurde. Anschließend wurde Phosphorylchlorid zuge tropft und der Reaktionsansatz für 6.5 Stunden bei 0 °C gerührt, wobei der Verlauf der Reaktion kontinuierlich via RP-HPL-Chromatographie verfolgt wurde. Da kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurden nach fünf Stunden weitere 18 Äquivalente  $\text{POCl}_3$  zuge tropft. Das Problem war jedoch, dass nach der erneuten Zugabe statt eines erfolgreichen Umsatzes die Bildung von Nebenprodukten durch die Spaltung der Photomaske unter den sauren Reaktionsbedingungen zu beobachten war. Aus diesem Grund wurde die Monophosphorylierung wiederholt, mit dem Unterschied, dass dieses Mal zu Beginn der Reaktion zwei Äquivalente Triethylamin zugegeben und weniger  $\text{POCl}_3$  eingesetzt wurde. Da auch bei dieser Reaktion anfänglich kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurden weitere sechs Äquivalente  $\text{POCl}_3$  zugegeben, was schließlich zu einem vollständigen Umsatz führte. Zudem konnte die Bildung von Nebenprodukten bei diesem Syntheserversuch, bei dem zusätzlich Triethylamin verwendet wurde, nicht beobachtet werden. Das Reaktionsgemisch wurde zum Beenden der Reaktion

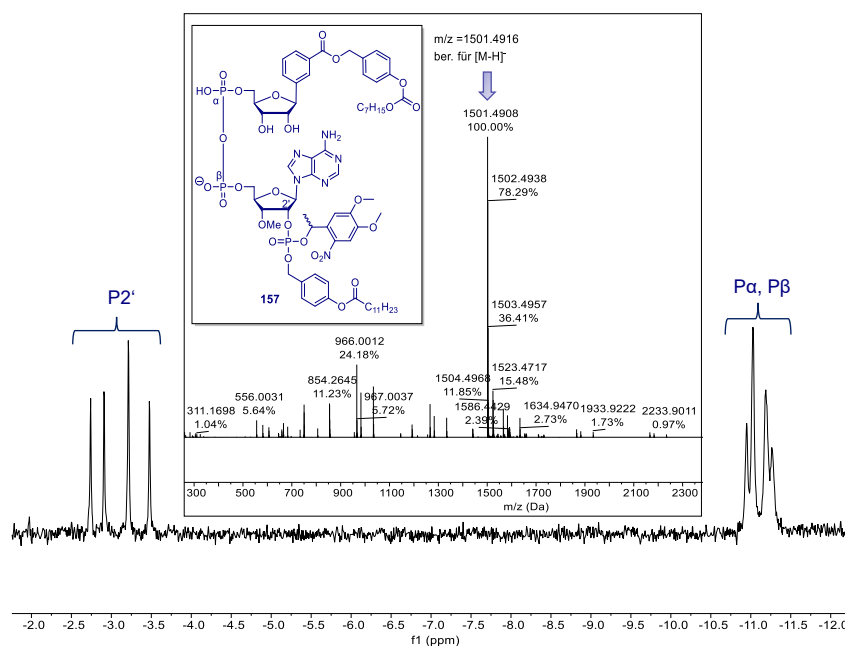
zu einer eisgekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer-Lösung gegeben. Nach mehrfacher RP-18-säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt **155** in einer Ausbeute von 82 % isoliert werden.

Die Kupplung der beiden Monophosphat-Bausteine **48** und **155** erfolgte nach dem bereits bekannten Protokoll von MOHAMADY *et. al.*, wie in Abbildung 6.70 dargestellt.<sup>[151]</sup>



**Abb. 6.70:** Kupplung der Monophosphate **48** und **155** zur Darstellung des MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADPs **157**.

Für die Kupplung wurde die Aktivierung des oberen Monophosphats **48** durchgeführt, sodass nach der anschließenden Zugabe des Diphosphats **155** die Ausbildung der Pyrophosphatbindung und die damit verbundene Bildung des MeNV-MASTER-NAADP-Derivats **157** erfolgte. Nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte MASTER-NAADP-Derivat **157** in einer Ausbeute von 43 % isoliert werden.

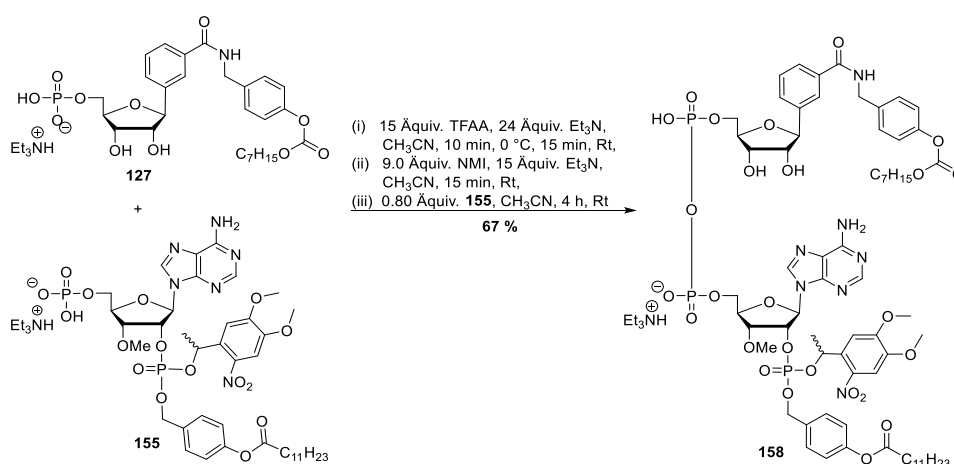


**Abb. 6.71:** <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum (600 MHz, 25 °C, DMSO-*d*<sub>6</sub>) und ESI<sup>-</sup> Massenspektrum (im Kasten) des MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **157**.

In Abbildung 6.71 ist ein Ausschnitt des  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrums dargestellt, in dem das Dublett mit eindeutigem Dacheffekt und die für das Dinucleotid **157** charakteristischen chemischen Verschiebungen erkennbar sind. Aufgrund der chiralen Zentren sind vier Diastereomere dieser Verbindung **157** zu erwarten. Diese vier Diastereomere sind am Kupplungsmuster der  $^{31}\text{P}$ -Signale für das 2'-Phosphat gut zu erkennen. Zusätzlich zur NMR-Analytik erfolgte die Identifikation der gebildeten Referenzverbindung **157** durch die Aufnahme eines ESI-Massenspektrums. Das entsprechende Spektrum ist in Abbildung 6.71 im Kasten dargestellt.

### 6.8.2 Synthese des MeNV-3'-OMe-MASTER-NADPs

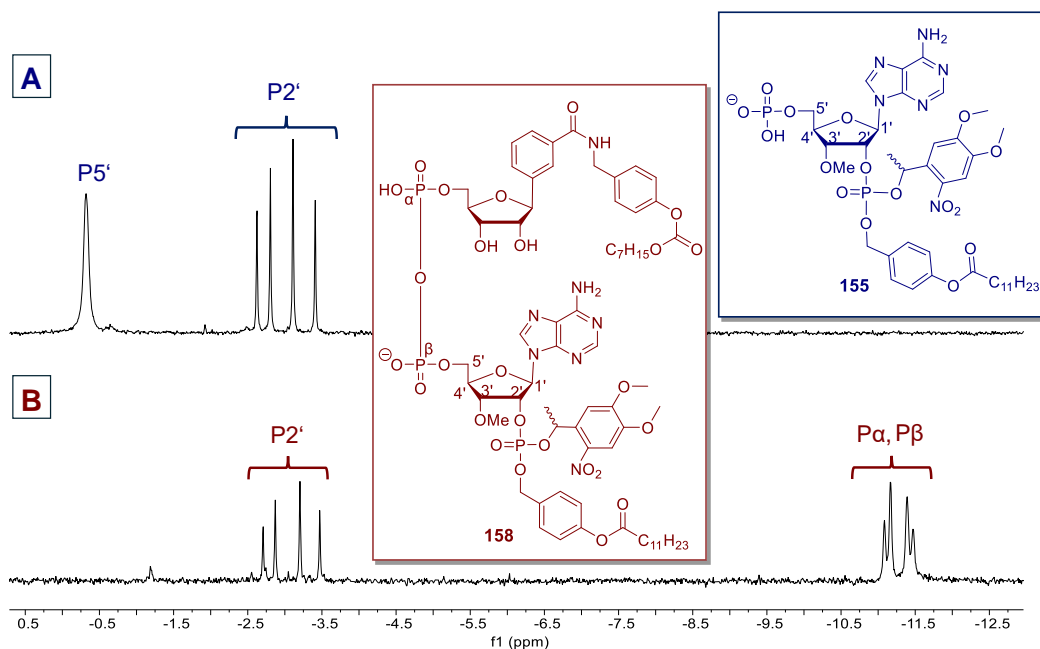
Nach der erfolgreichen Synthese des MeNV-MASTER-NAADP-Derivats **157** sollte im Anschluss die Kupplung der analogen Referenzverbindung erfolgen. Auch die Kupplung des MeNV-MASTER-NADP-Derivats **158** erfolgte nach dem bereits genutzten Protokoll von MOHAMADY *et al.*<sup>[151]</sup> Die Reaktionsbedingungen sind in Abbildung 6.72 dargestellt.



**Abb. 6.72:** Kupplung der Monophosphate **127** und **155** zur Darstellung des MeNV-3'-OMe-MASTER-NADPs **158** als Referenzverbindung.

Die Synthesen der beiden Monophosphate wurden bereits in den Abschnitten 6.4 und 6.6.1 beschrieben. Das MeNV-MASTER-NADP-Derivat **158** konnte in einer Ausbeute von 67 % erhalten werden.

In Abbildung 6.73 ist das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des Monophosphats **155** gefolgt von dem des isolierten Produkts **158** dargestellt, mit den beiden Spektren im Vergleich kann die erfolgreiche Kupplung zum 3'-OMe-MASTER-NADP bestätigt werden.

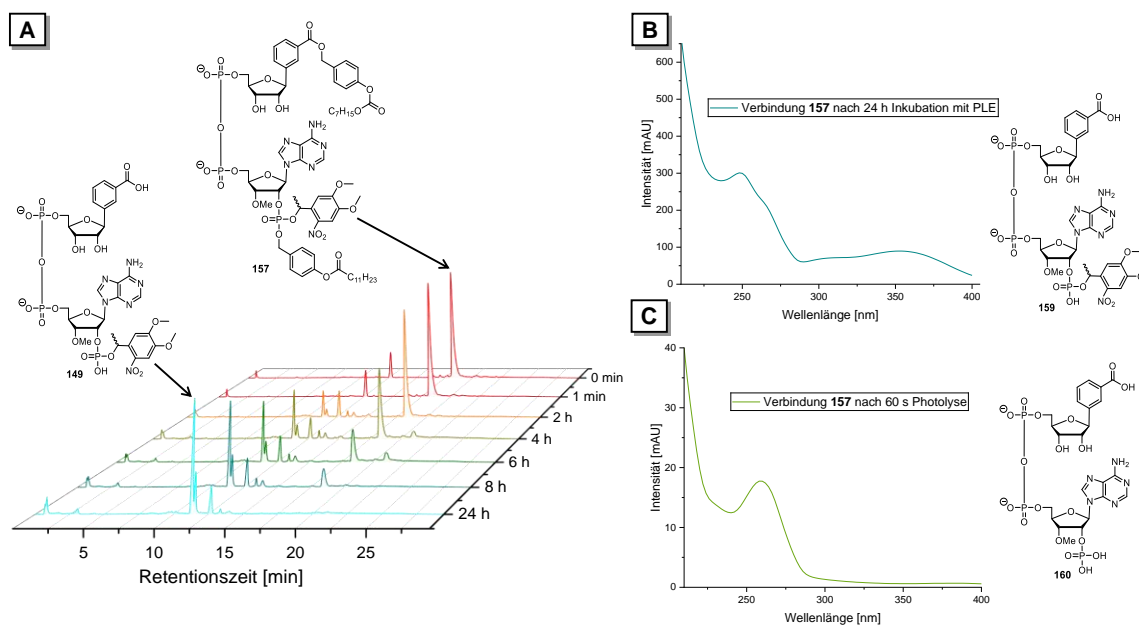


**Abb. 6.73:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des 3'-OMe-Adenosin-2',5'-diphosphats **155** (600 MHz, 25 °C,  $\text{DMSO-}d_6$ ) (A) und das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum nach der Kupplung bei der das 3'-OMe-MASTER-NAADP **158** gebildet wurde (600 MHz, 25 °C,  $\text{DMSO-}d_6$ ) (B).

Im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des Edukts **155** (Abb. 6.73, A) sind die Signale mit ihrer charakteristischen Verschiebung für die Monophosphate zu erkennen. Im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des Produkts **158** hingegen sind zusätzlich zu den Signalen des 2'-Monophosphats, die für das Pyrophosphat typischen Signale mit den zu erwartenden Verschiebungen und Aufspaltungsmustern zu erkennen. Aufgrund der chiralen Zentren (asymmetrische Phosphatgruppe und MeNV-Gruppe) sind vier Diastereomere der beiden Verbindungen zu erwarten. Diese vier Diastereomere sind am Kopplungsmuster in beiden  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren an den Signalen für das 2'-Phosphat zu erkennen. Die erfolgreiche Kupplungsreaktion und die dadurch erfolgte Knüpfung zum Dinucleotid wird durch die Anwesenheit der beiden Dubletts mit eindeutigem Dacheffekt und mit den für das Dinucleotid charakteristischen Verschiebungen zwischen -10 bis -13 ppm bestätigt (Abb. 6.73, B). Zusätzlich zur NMR-spektroskopischen Auswertung, konnte die erfolgreiche Synthese des MASTER-NADPs **158** massenspektrometrisch bestätigt werden.

## 6.9 Hydrolyse- und Photolyseverhalten der MeNV-3'-OMe-MASTER-Derivate

Die beiden MeNV-3'-OMe-MASTER-Derivate **157** und **158** wurden im ersten Schritt hinsichtlich ihrer enzymatischen Stabilität untersucht, gefolgt von der Photolyse des bei der Hydrolyse entstandenen Metaboliten. Die beiden Derivate **157** und **158** wurden nach den in Abschnitt 7.1.10 beschriebenen Bedingungen der Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsstudien vorerst durch die Inkubation mit PLE hydrolysiert und anschließend mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm photolysiert. Die Ergebnisse der Kombinationsstudien der beiden Derivate sind in den Abbildungen 6.74 (NAADP-Derivat **157**) und 6.75 (NADP-Derivat **158**) dargestellt.

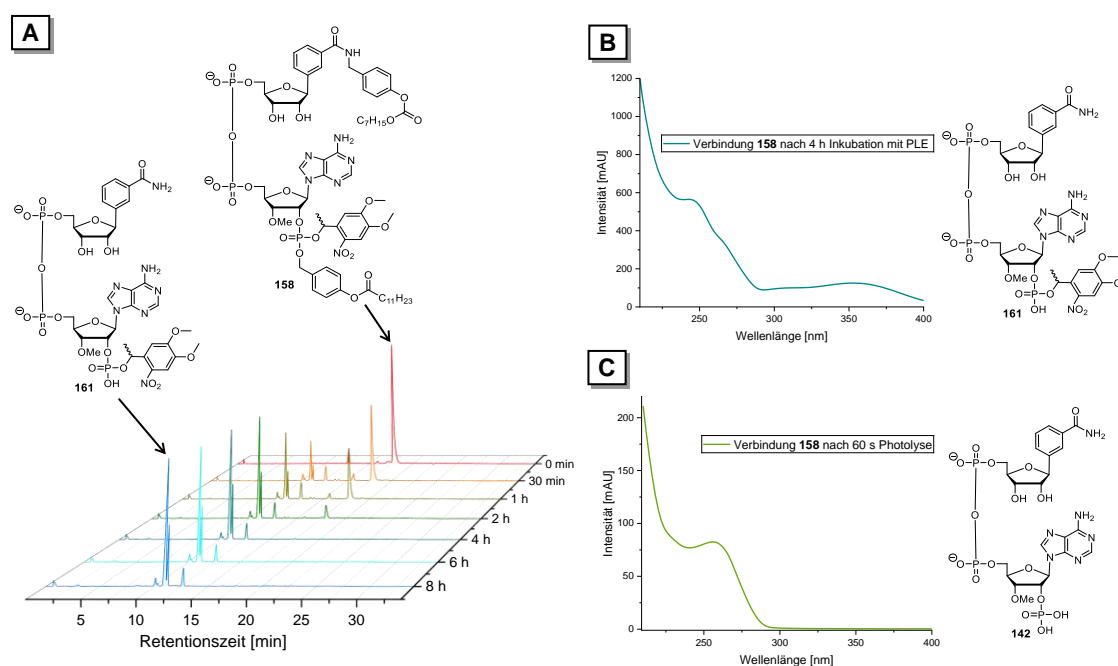


**Abb. 6.74:** Chromatogramme der enzymatischen Hydrolyse des MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **157** mit PLE (A). Das UV-Absorptionsspektrum des entstandenen Peaks nach 24 h Inkubation mit PLE (B) und das UV-Absorptionsspektrum des entstandenen Peaks nachdem die 24 h Probe mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt wurde (C).

Aus dem Wasserfalldiagramm (Abb. 6.74, A) wird ersichtlich, dass das maskierte MASTER-Derivat **157** im Laufe der enzymatischen Hydrolyse mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 6.4$  h abgebaut wird. Erst nach 24 Stunden konnte die vollständige Hydrolyse des MASTER-NAADPs **157** beobachtet werden. Es konnte die Bildung des demaskierten Derivats **159**, welches an der 2'-Phosphatgruppe noch die Photomaske trägt, mit einer Retentionszeit von 11.3 Minuten, beobachtet werden. Wird das Absorptionsspektrum dieses gebildeten Peaks betrachtet (Abb. 6.74, B), ist die charakteristische Adenosin- und auch die Photogruppenabsorption bei über 300 nm zu erkennen. Daraus kann gefolgert werden, dass der neu gebildete Metabolit **159** weiterhin die MeNV-Maske trägt. Dieser Peak unterscheidet sich jedoch maßgeblich in seiner Retentionszeit vom MASTER-Derivat **157** durch seine

geringere Lipophilie, was auf die Abspaltung der beiden lipophilen Masken hindeutet. Durch die anschließende Photolyse des gebildeten Metaboliten bei 365 nm sollte die Freisetzung des vollständig demaskierten Metaboliten **160** beobachtet werden. Da sich jedoch während des Photolyseexperiments herausstellte, dass die Metaboliten **159** und **160** die gleiche Retentionszeit während der HPLC-Analyse aufwiesen, konnten keine Halbwertszeiten bestimmt werden. Es konnte lediglich beobachtet werden, wie der Peak kleiner wurde und nach einigen Sekunden wieder zu steigen schien. Es konnte jedoch anhand der Absorptionsspektren (Abb. 6.74, B und C) deutlich beobachtet werden, dass im Zuge des Photolyseexperiments die Photogruppenabsorption von über 300 nm abnahm. Nach 60 Sekunden war die charakteristische Photogruppenabsorption nicht mehr im Absorptionsspektrum zu sehen.

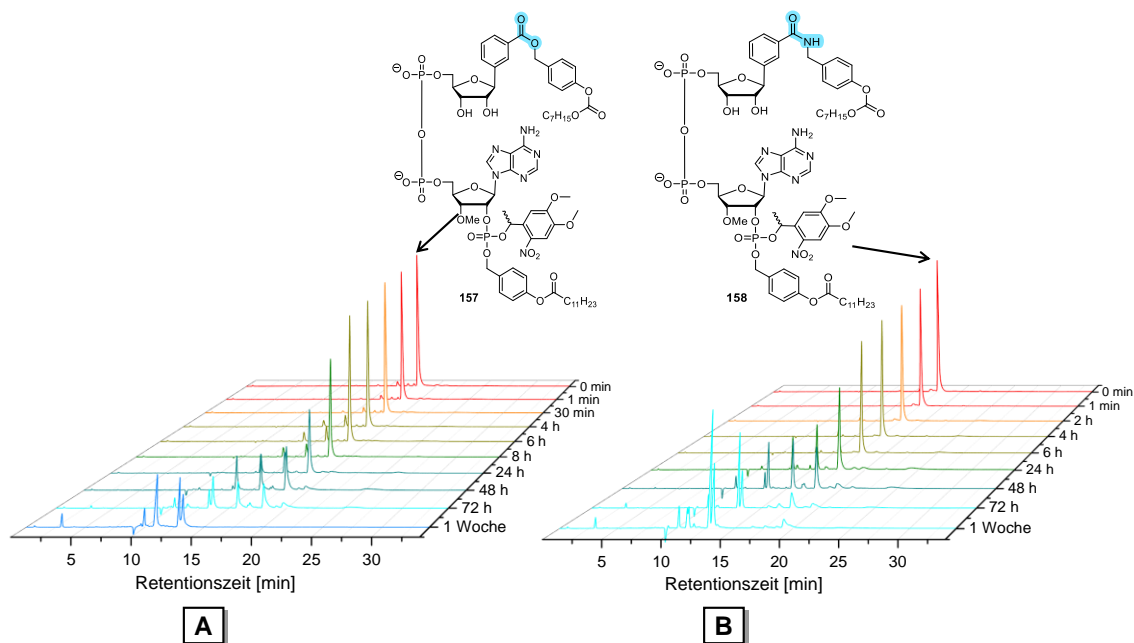
Die Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsstudie wurde auch mit der Referenzverbindung **158** durchgeführt. Dafür wurde auch diese Verbindung **158** durch die Inkubation mit PLE hydrolysiert und anschließend bei 365 nm photolysiert. Das Ergebnis dieser Kombinationsstudien ist in Abbildung 6.75 dargestellt.



**Abb. 6.75:** Chromatogramme der enzymatischen Hydrolyse des MeNV-3'-OMe-MASTER-NADP-Derivats **158** mit PLE (A). Das UV-Absorptionsspektrum des entstandenen Peaks nach 4 h Inkubation mit PLE (B) und das UV-Absorptionsspektrum des entstandenen Peaks nachdem die vier Stunden Probe mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt wurde (C).

Die maskierte Referenzverbindung **158** wird mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 1.1$  h hydrolysiert. Die Halbwertszeit ist deutlich kleiner als die der aktiven Verbindung **157**, was auf eine deutlich schnellere enzymatische Hydrolyse hinweist. Die vollständige Hydrolyse des MASTER-NADPs **158** konnte bereits nach vier Stunden beobachtet werden, wie im

Wasserfalldiagramm (Abb. 6.75, A) zu erkennen ist. Es konnte die Bildung des demaskierten Derivats **161**, welches eine MeNV-Maske an der 2'-Phosphatgruppe trägt, mit einer Retentionszeit von 10.9 Minuten, beobachtet werden. Auch im Absorptionsspektrum dieses gebildeten Peaks (Abb. 6.75, B), ist die charakteristische Adenosin- und auch die Photogruppenabsorption von über 300 nm zu erkennen. Durch die veränderte Retentionszeit im Vergleich zum maskierten NADP-Derivat **158** kann jedoch von der vollständigen Spaltung der lipophilen Masken ausgegangen werden, dies wurde zusätzlich mit Hilfe einer LC-MS-Messung des entstandenen Peaks bestätigt. Auch bei diesem Photolyseexperiment stellte sich heraus, dass der Metabolit **161** und der nach der Photolyse entstandene Metabolit **142** die gleiche Retentionszeit von 10.9 Minuten während der HPLC-Analyse aufwiesen. Aus diesem Grund konnten auch bei diesem Experiment keine Halbwertszeiten der Photolyse bestimmt werden. Es konnte jedoch anhand der Absorptionsspektren (Abb. 6.75, B und C) deutlich beobachtet werden, dass im Verlauf des Photolyseexperiments die Photogruppenabsorption von über 300 nm verschwand. Nach 60 Sekunden war die charakteristische Photogruppenabsorption nicht mehr im Absorptionsspektrum zu sehen. Die beiden MeNV-3'-OMe-MASTER-Derivate **157** und **158** wurden hinsichtlich ihrer chemischen Stabilität untersucht. In Abbildung 6.76 sind die Hydrolyseverläufe in PBS-Puffer der beiden Derivate dargestellt.



**Abb. 6.76:** Chromatogramme der chemischen Hydrolysen des MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **157** (A) und des MeNV-3'-OMe-MASTER-NADP-Derivats **158** (B) in PBS-Puffer.

Für die Bestimmung der chemischen Stabilität wurden das NAADP-Derivat **157** und das NADP-Derivat **158** in physiologischem PBS-Puffer (pH = 7.3) inkubiert. Werden die berechneten Halbwertszeiten mit denen aus Abschnitt 6.6 verglichen, so fällt auf, dass bei diesem

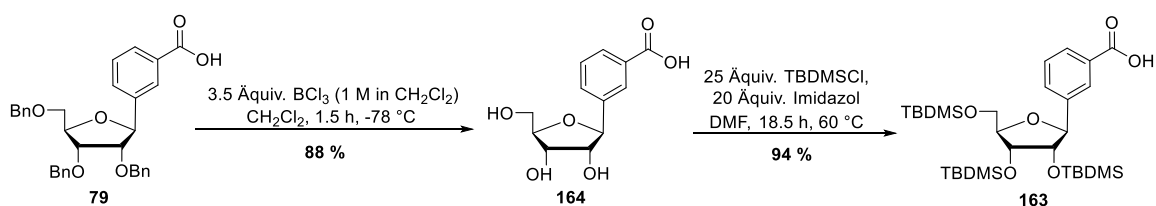
Hydrolyseexperiment die Referenzverbindung **158** mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 44$  h ähnlich schnell wie das NAADP-Derivat **157** zerfällt, dessen Peakfläche mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 42$  h abnimmt. Bei beiden Verbindungen ist im Wasserfalldiagramm (Abb. 6.76) der vollständige Zerfall erst bei der Probe zu erkennen, die nach einer Woche entnommen und mittels RP-HPLC analysiert wurde. Nach 72 Stunden ist bei beiden Proben noch ein kleiner Peak des jeweiligen noch nicht vollständig hydrolysierten Derivats zu erkennen.

## 6.10 Synthese des NV-3'-OMe-MASTER-NAADPs

Die Synthese einer MASTER-NAADP-Verbindung mit Photomaske am oberen als auch am unteren Baustein sollte erfolgen, damit nach einem definierten Zeitintervall die Abspaltung der Masken erfolgen kann, da die photolabilen Masken mit Hilfe von Licht gespalten werden können, sobald die eine lipophile-AB-Maske in der Zelle enzymatisch gespalten wurde. In Arbeiten von DEKIERT wurden bereits chemische und enzymatische Hydrolyseversuche mit einer MeNV-maskierten Nicotinsäure durchgeführt.<sup>[15]</sup> Er beschreibt, dass die photolabile Schutzgruppe an der Carbonsäure enzymatisch spaltbar ist. Nach 60 Minuten Inkubation mit PLE ist bereits ein Teil der photolabilen Maske enzymatisch gespalten, woraus DEKIERT schließt, dass die Maskierung der Carbonsäure mit einer photolabilen Maske ungeeignet ist. Aus dieser Erkenntnis resultierte die Maskierung des oberen Bausteins mit einer bioreversiblen ACB-Maske, wie auch die zuvor in dieser Arbeit synthetisierten NAADP-Derivate maskiert wurden.<sup>[15]</sup> Weil in Arbeiten von HOFMANN beobachtet wurde, dass sich bei den Referenzverbindungen die lipophile Maske am oberen Baustein nicht immer vollständig abzuspalten scheint, sollte die Carbonsäure mit einer Photomaske statt der zuvor genutzten ACB-Maske maskiert werden.<sup>[154]</sup> Daher sollte eine zweite photolabile Maske eingeführt werden, da das Molekül, selbst wenn in der Zelle erste Teile der Maske an der Carbonsäure bereits enzymatisch gespalten werden, sich am 2'-Phosphat des unteren Bausteins noch eine weitere Photomaske befindet, die nicht enzymatisch gespalten wird und das Molekül nach wie vor inaktiv ist. Anstelle der im vorherigen Abschnitt verwendeten MeNV-Maske sollte hier sowohl am oberen als auch am unteren Baustein die NV-Maske eingeführt werden. Der Grund hierfür ist die erleichterte Charakterisierung des gewünschten NV-MASTER-NAADP-Derivats, da dieses aufgrund eines Stereozentrums nur zur Bildung von zwei Diastereomeren führt. Wird hingegen die Synthese der MeNV-MASTER-NAADP-Verbindung angestrebt, so erschwert die Anwesenheit der acht Diastereomere aufgrund der drei Stereozentren im Molekül die Auswertung der analytischen Daten enorm.

### 6.10.1 Synthese des *photocaged* Monophosphats

Das NV-maskierte Monophosphat **162** sollte in Anlehnung an die Syntheseroute für das ACB-maskierte Monophosphat **48** aus Abschnitt 6.1.3 dargestellt werden. Bei dieser Route ist es jedoch im Gegensatz zur bereits bestehenden Route sehr wichtig, die Benzylschutzgruppen vor der Veresterung und der damit verbundenen Maskierung der Carbonsäure durch TBDMS-Schutzgruppen zu ersetzen. Der Grund dafür ist, dass das photomaskierte Derivat unter den Reaktionsbedingungen bei der Debenzylierung mit Bortrichlorid nicht stabil genug war. Die Synthese der TBDMS-geschützten Carbonsäure **163** erfolgte, wie in Abbildung 6.77, dargestellt.

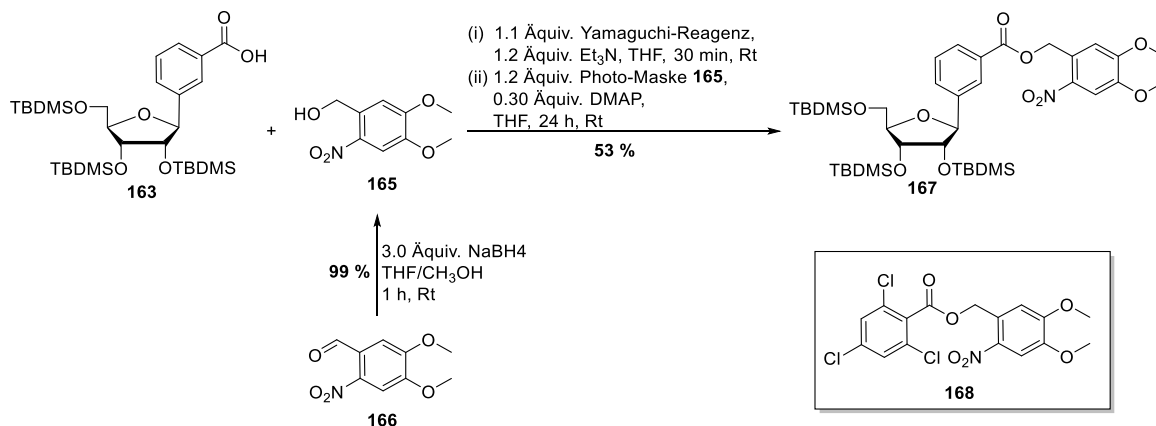


**Abb. 6.77:** Syntheschema zur Debenzylierung des Ribose-Derivats **79** mit anschließender TBDMS-Schützung zur Darstellung des silylgeschützten Derivats **163**.

Die Spaltung der Benzylschutzgruppe erfolgt auch bei dieser Syntheseroute unter den bereits mehrfach in dieser Arbeit verwendeten Reaktionsbedingungen durch die Zugabe einer Bortrichlorid-Lösung. Bereits nach 1.5 Stunden konnte dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet werden, weshalb die Reaktion durch die Zugabe von Wasser beendet wurde. Im Gegensatz zu den zuvor durchgeführten Debenzylierungsreaktionen mit Bortrichlorid muss hier beim Beenden der Reaktion nicht auf den pH-Wert geachtet werden, da dieses Molekül nicht maskiert ist und somit keine säurekatalysierte Esterspaltung stattfinden kann. Das debenzylierte Derivat **164** konnte mit einer Ausbeute von 88 % erhalten werden. Durch die Verwendung von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und Imidazol in DMF wurden alle freien Hydroxygruppen des Zuckers **164** silyliert.<sup>[102]</sup> Abweichend vom Protokoll von SCHNEIDER wurden hier statt sieben Äquivalenten TBDMSCl, 25 Äquivalente eingesetzt und zusätzlich wurde die Reaktion nicht bei Raumtemperatur, sondern für 18.5 Stunden bei 60 °C gerührt, um alle Hydroxygruppen vollständig zu silylieren. Das gewünschte Produkt **163** konnte mit einer Ausbeute von 94 % erhalten werden.

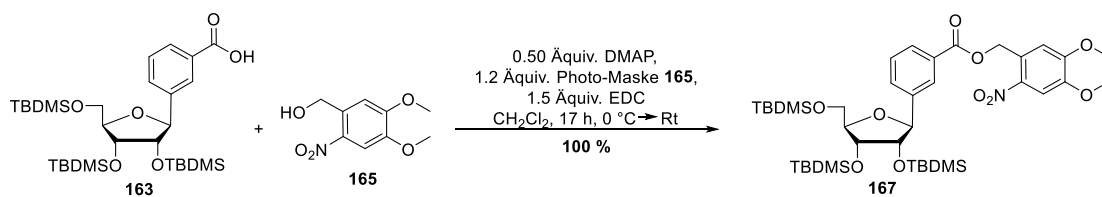
Die Maskierung der silylgeschützten Verbindung **163** sollte, nach dem in Abschnitt 6.1.3 (Abb. 6.24) bereits genutzten Protokoll in Anlehnung an YAMAGUCHI erfolgen (Abb. 6.78).<sup>[149]</sup> Die Synthese des in dieser Reaktion eingesetzten 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylalkohols **165** erfolgte durch die Reduktion des kommerziell erhältlichen 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzaldehyds **166** nach einer Vorschrift von JESCHIK *et al.*, dabei konnte das

Produkt **165** in einer Ausbeute von 99 % erhalten werden. Diese Ausbeute, sowie die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein.<sup>[103,172]</sup>



**Abb. 6.78:** Synthese der Veresterung nach YAMAGUCHI zur Darstellung des photomaskierten Derivats **167**. In der Box ist das während der Reaktion entstandene Nebenprodukt **168** dargestellt.

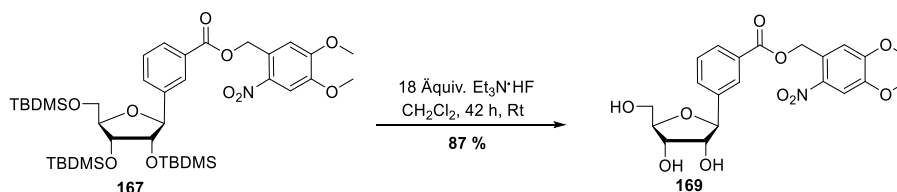
Zur Aktivierung der Carbonsäure der Verbindung **163** wurde diese für 30 Minuten mit Triethylamin und dem YAMAGUCHI-Reagenz in THF bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde die Photomaske **165** und katalytische Mengen DMAP zugegeben. Nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung, gefolgt von einer präparativen Dünnschichtchromatographie konnte das Produkt **167** in einer Ausbeute von 53 % erhalten werden. Der Grund dieser mäßigen Ausbeute lag in der Bildung des Nebenprodukts **168**, welches isoliert und NMR-spektroskopisch sowie massenspektrometrisch analysiert werden konnte. Das Nebenprodukt **168** wurde durch die Reaktion der Photomaske **165** mit dem YAMAGUCHI-Reagenz gebildet. Diese Reaktion konkurriert mit der Synthese der gewünschten maskierten Verbindung **167**. Die Bildung des Nebenprodukts **168** erschwerte zudem die Reinigung des gewünschten Produkts **167**, da die beiden Verbindungen während der säulenchromatographischen Reinigung koeluierten. Auch durch die Zugabe von Toluol zum Laufmittel, was sich in dieser Arbeit oft als erfolgreich erwiesen hat, führte in diesem Fall nicht zur gewünschten Trennung der beiden Verbindungen. Jedoch konnte anstelle der säulenchromatographischen Reinigung eine präparative Dünnschichtchromatographie erfolgreich durchgeführt werden. Aufgrund der komplexen Reinigung und der mäßigen Ausbeute sollte eine weitere Synthese zur Verknüpfung der Photomaske **165** mit der Carbonsäure **163** erprobt werden. Die Veresterung erfolgte nach einem Protokoll von STEGLICH, nach den in Abbildung 6.79 dargestellten Reaktionsbedingungen.<sup>[164]</sup>



**Abb. 6.79:** Reaktionsbedingungen für die Veresterung nach STEGLICH zur Darstellung des photo-maskierten Derivats **167**.

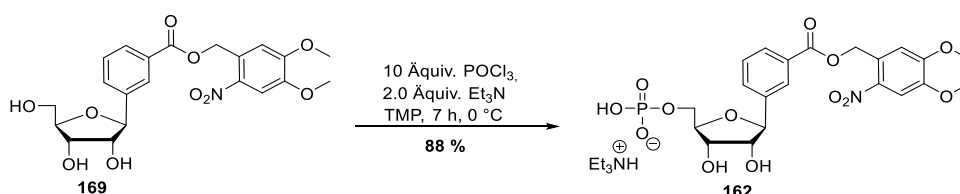
Die Verbindung **163** wurde in Dichlormethan gelöst, DMAP zugegeben und der Reaktionsansatz auf 0 °C gekühlt. Anschließend erfolgte die Zugabe der Photomaske **165** und des 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimids (EDC). Die Reaktionslösung wurde für 17 Stunden gerührt, während sie sich auf Raumtemperatur erwärmte. Das maskierte Derivat **167** wurde nach der erfolgten säulenchromatographischen Reinigung in einer quantitativen Ausbeute erhalten.

Im nächsten Syntheseschritt erfolgte die Spaltung der TBDMS-Schutzgruppen, um die Ribose **169** zu erhalten, damit diese im darauffolgenden Syntheseschritt selektiv 5'-monophosphoryliert werden kann. Die Reaktionsbedingungen zur Spaltung der Schutzgruppen sind in Abbildung 6.80 dargestellt.<sup>[102]</sup>



**Abb. 6.80:** Darstellung der Verbindung **169** nach der Spaltung der drei TBDMS-Gruppen.

Für die Desilylierung der geschützten Verbindung **167** wurde diese mit einem triethylamin-gepuffertem Desilylierungsreagenz, dem Triethylamin·Trihydrofluorid, umgesetzt. Durch die Zugabe dieser Fluoridionenquelle konnte die vollständige Spaltung der TBDMS-Gruppen realisiert werden. Das gewünschte vollständig desilylierte Produkt **169** wurde in einer Ausbeute von 87 % erhalten.



**Abb. 6.81:** Selektive 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung des Monophosphats **162**.

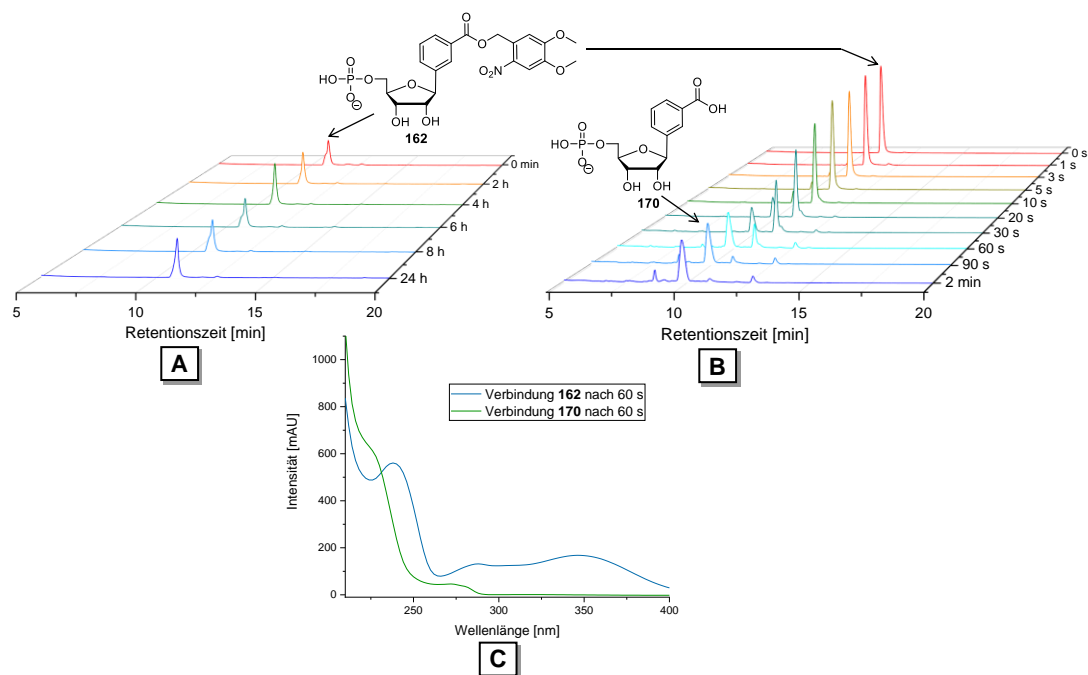
Die entschützte Verbindung **169** wurde anschließend analog zu den vorherigen Abschnitten nach der Methode von YOSHIKAWA *et al.* zum 5'-Monophosphat **162** umgesetzt.<sup>[143,144]</sup> Wie bereits in Abschnitt 6.5.1 beschrieben, musste für die Monophosphorylierung der

photomaskierten Verbindung zusätzlich Triethylamin zugegeben werden, da während der 5'-Phosphorylierung der 2'-photomaskierten Verbindung **156** beobachtet wurde, dass unter den zuvor verwendeten Reaktionsbedingungen die maskierte Verbindung **156** nicht stabil war. Aus diesem Grund wurde auch bei der Monophosphorylierung von Verbindung **169** zusätzlich Triethylamin zur Reaktion gegeben. Das gewünschte Produkt **162** wurde nach der säulenchromatographischen Reinigung mit einer Ausbeute von 88 % isoliert.

Es empfiehlt sich vor der Synthese des unteren Bausteins Photolyse- und Hydrolyse-Experimente durchzuführen, um zu überprüfen, ob die Photomaske durch PLE-Inkubation des Monophosphats **162** bereits enzymatisch an dieser Position gespalten wird. Es soll damit die Stabilität dieser photomaskierten Verbindung **162** untersucht werden, wie es bereits bei der photomaskierten Nicotinsäure in Arbeiten von DEKIERT erfolgte.<sup>[15]</sup>

DEKIERT beschreibt, dass die enzymatische Spaltung der photolabilen Schutzgruppe an der Nicotinsäure erfolgt und bereits nach 60 Minuten Inkubationszeit eine erhebliche Menge der gespaltenen photospaltbaren Schutzgruppe im Chromatogramm zu erkennen war.<sup>[15]</sup> Aus diesem Grund wurde mit dem synthetisierten *photocaged* Monophosphat **162** eine Hydrolysestudie durchgeführt und dieses für 24 Stunden mit PLE inkubiert, bevor die Kupplung zum NAADP-Derivat erfolgen sollte.

Im vorliegenden Experiment (Abb. 6.82) wurde zunächst die Stabilität der Verbindung **162** nach PLE-Inkubation analysiert.

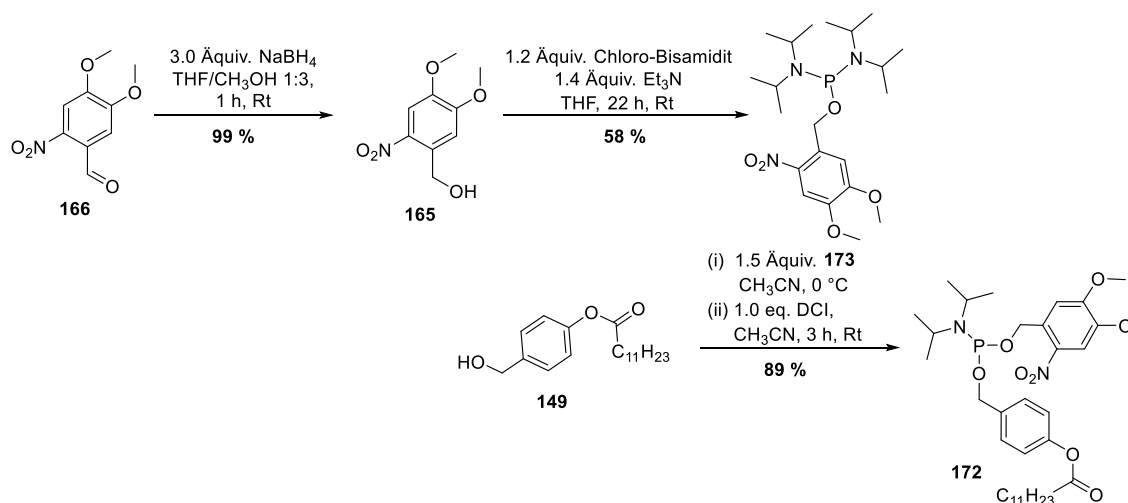


**Abb. 6.82:** Diagramm nach Inkubation des Derivats **162** mit PLE (A). Ausschnitt des Wasserfall-diagramms der Photolysereaktion von Verbindung **162** (B) und das UV-Absorptionsspektrum der beiden Peaks der Photolysereaktion, nachdem das Derivat **162** für 60 Sekunden mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt wurde (C). Es wurde eine UV/Vis-Detektion von 220 nm gewählt.

Die von DEKIERT beschriebene enzymatische Spaltung der Photomaske des photomaskierten Nicotinsäure-Derivats, die bereits nach 60 Minuten Inkubationszeit zu beobachten war, konnte beim Monophosphat **162** auch nach 24 Stunden Inkubation in PLE nicht beobachtet werden. Die Chromatogramme der zu bestimmten Zeitpunkten entnommenen Aliquote sind in Abbildung 6.82 (Chromatogramm A) dargestellt. Bei der Betrachtung des Wasserfall-diagramms wird ersichtlich, dass das *photocaged* Monophosphat **162** während der gesamten Hydrolysedauer nicht enzymatisch gespalten wird. Nachdem die enzymatische Stabilität dieser Verbindung **162** untersucht wurde, wurde diese unter den in Abschnitt 7.1.9 beschriebenen Photolysebedingungen bei einer Wellenlänge von 365 nm photolysiert. Das Ergebnis des Photolyseexperiments ist in Abbildung 6.82 (Chromatogramm B) dargestellt. Der Peak des *photocaged* Derivats **162** weist eine Retentionszeit von 10.5 Minuten und ein für diese Verbindung charakteristisches UV-Absorptionsspektrum auf. Der Peak weist das für die Photogruppe charakteristische lokale Maximum bei ca. 350 nm auf (Abb. 6.82, C (blau)). Nachdem die Bestrahlung der Probe begonnen hat, nimmt der Peak der *photocaged* Verbindung **162** mit einer ermittelten Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 42$  s ab, bis diese nach einer gesamten Bestrahlungsdauer von zwei Minuten fast vollständig photolysiert wurde. Für die Ermittlung der Halbwertszeiten wurde eine UV/Vis-Detektion von 270 nm gewählt. Die Entstehung des Peaks für das demaskierte Produkt **170** bei einer Retentionszeit von 9.8 Minuten ist über die Zeit der Bestrahlung zu beobachten. Der entstandene Peak zeigt das für das demaskierte Produkt **170** charakteristische Absorptionsspektrum (Abb. 6.82, C (grün)). Dieser entstandene Peak konnte durch die Coinjektion der in Abschnitt 6.11.1 synthetisierten Verbindung **170** zu dieser zugeordnet werden. Zudem stimmt auch die Retentionszeit des entstandenen Peaks mit der von der synthetisierten Verbindung **170** überein. Nachdem erfolgreich mit dem Hydrolyse- und dem Photolyseexperiment bestätigt werden konnte, dass die photolabile Maske auch unter Bestrahlung mit Licht mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm photolytisch gespalten wird, ohne enzymatisch gespalten zu werden, sollte die Synthese des Diphosphats **171** erfolgen, an den der photomaskierte Baustein im Anschluss gekuppelt wird.

### 6.10.2 Synthese des 2'-(4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-(3'-Methoxyadenosin)-2',5'-diphosphats

Die Reaktionsbedingungen zur Synthese des asymmetrischen Amidits **172** sind in Abbildung 6.83 dargestellt. Die Synthesen der beiden dafür verwendeten Masken erfolgte nach unterschiedlichen in der Arbeitsgruppe von MEIER bereits etablierten und ausführlich diskutierten Protokollen.<sup>[103,152]</sup>



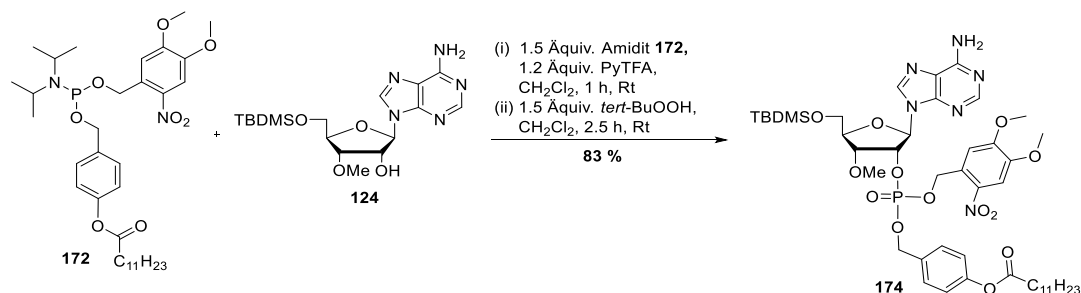
**Abb. 6.83:** Synthese des asymmetrischen Amidits **172**.

Die Synthese des Esters **149** erfolgte nach einem in der Arbeitsgruppe von MEIER etablierten und bereits in Abschnitt 6.6.1 beschriebenen Protokoll zur Synthese verschiedener Acyloxybenzylester.

Die Darstellung des Alkohols **165** erfolgte nach einer Vorschrift von JESCHIK bei der die kommerziell erhältliche Ausgangsverbindung **166** mit Natriumborhydrid reduziert wird.<sup>[103,172]</sup> Der gewünschte Alkohol **165** wurde in einer Ausbeute von 99 % erhalten. Die Ausbeute und die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[103,172]</sup>

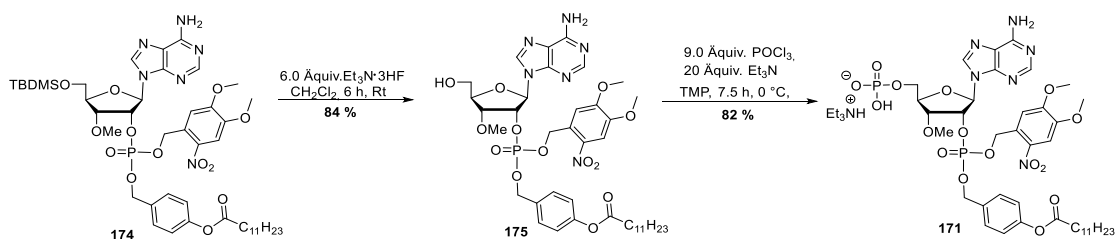
Die Reihenfolge, in der die beiden verschiedenen Masken an das Amidit geknüpft werden, sollte bei dieser Synthese getauscht werden. Bei der Synthese des asymmetrischen Amidits **147** in Abschnitt 6.8.1 (Abb. 6.67) wurde zunächst die AB-Maske mit dem Amidit verknüpft. Der Grund war, dass dadurch erst zu einem späteren Zeitpunkt unter Lichtausschluss gearbeitet werden muss. Nach mehrfacher Synthese des Amidits **153** zeigte sich jedoch, dass häufig das zweifach maskierte Amidit als Nebenprodukt gebildet wurde, das sich säulenchromatographisch schlecht trennen ließ. In Arbeiten von JESCHIK, bei Synthesen von asymmetrischen Amiditen wurde immer erst das photomaskierte Amidit synthetisiert. Weil die Bildung von Nebenprodukten in Arbeiten von JESCHIK nicht beschrieben wurde, sollte die Synthese des asymmetrischen Amidits nach einer Kombination der Protokolle von JESCHIK und DEKIERT erfolgen.<sup>[15,103]</sup> Es konnte jedoch bei dieser Reaktion nach 22 Stunden dünnschichtchromatographisch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden, weshalb die Reaktion beendet wurde. Es konnte im Gegensatz zur Synthese aus Abschnitt 6.8.1 bei dieser Synthese nicht die Bildung des zweifach maskierten Nebenprodukts beobachtet werden. Das gewünschte Amidit **173** wurde jedoch lediglich in einer moderaten Ausbeute von 58 % erhalten, was auf den nicht vollständigen Umsatz des Edukts **165** zurückzuführen ist. In Arbeiten von JESCHIK erfolgte jedoch diese Synthese nur mit der MeNV-Photomaske im Gegensatz zur in dieser Arbeit genutzten

NV-Maske, weshalb ein direkter Vergleich der Ausbeuten hier nicht möglich ist. Im zweiten Syntheseschritt konnte das asymmetrische Amidit **172** nach erfolgter Aktivierung mit Pyridiniumtrifluoracetat und dem Umsatz mit der lipophilen Maske **149** in einer guten Ausbeute von 89 % erhalten werden. Anschließend wurde das asymmetrische Amidit **172** an die 2'-Position des TBDMS-geschützten Adenosins **124** gekuppelt, wie in Abbildung 6.84 dargestellt. Dieser Syntheseschritt verlief analog zum Protokoll für die Kupplung des symmetrischen Amidits in Abschnitt 6.1.2.



**Abb. 6.84:** Synthese des asymmetrisch geschützten 2'-Monophosphats **174**.

Nach der Aktivierung und der Kupplung zum 2'-Phosphit erfolgte, wie bereits beschrieben, auch bei dieser Synthese im zweiten Schritt die Oxidation zum Phosphat **174**. Nachdem die Reaktion für 2.5 Stunden gerührt wurde, konnte dünn-schichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Das Monophosphat **174** konnte mit einer guten Ausbeute von 83 % erhalten werden. Diese Ausbeute passt zu den bisher in dieser Arbeit erzielten Ausbeuten für die zuvor durchgeführten Phosphoramidit-Kupplungen an ähnlichen Derivaten.



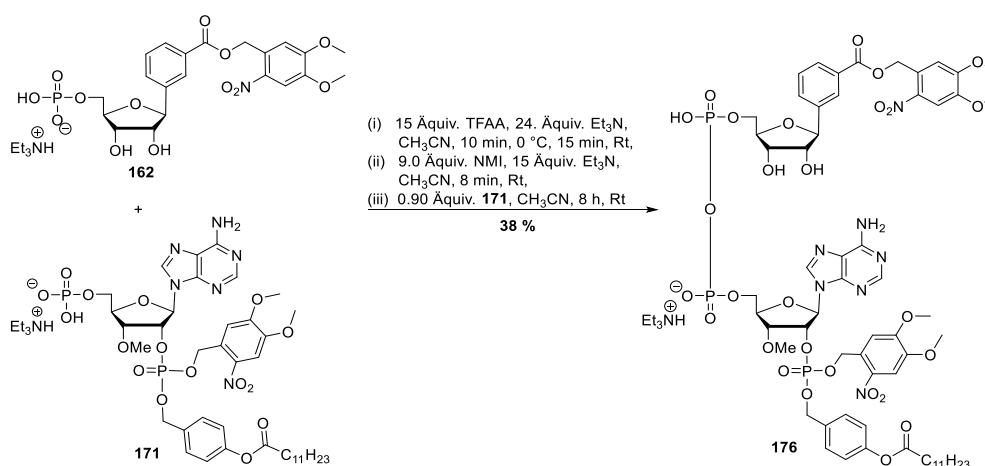
**Abb. 6.85:** Reaktionsbedingungen zur Spaltung der 5'-TBDMS-Gruppe gefolgt von der selektiven 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung des Monophosphats **171**.

Zur Spaltung der 5'-TBDMS-Gruppe wurde das Monophosphat **174** analog zu der in Abschnitt 6.1.2 beschriebenen Silylspaltung mit einem Überschuss an Triethylamin·Trihydrofluorid versetzt. Das Produkt **175** wurde mit einer Ausbeute von 84 % erhalten. Die 5'-Hydroxygruppe wurde im Anschluss nach den bereits bewährten Reaktionsbedingungen von YOSHIKAWA monophosphoryliert.<sup>[143]</sup> Wie bereits in Abschnitt 6.5.1 (Abb. 6.69) beschrieben, wurde auch bei dieser Reaktion aufgrund der Photomaske Triethylamin zur Reaktion gegeben. Es konnte während der Reaktionsverfolgung nach 7.5 Stunden ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Infolgedessen

wurde die Reaktion beendet, indem sie zu einem eisgekühlten Triethylammonium-bicarbonat-Puffer gegeben wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **171** in einer Ausbeute von 82 % erhalten werden.

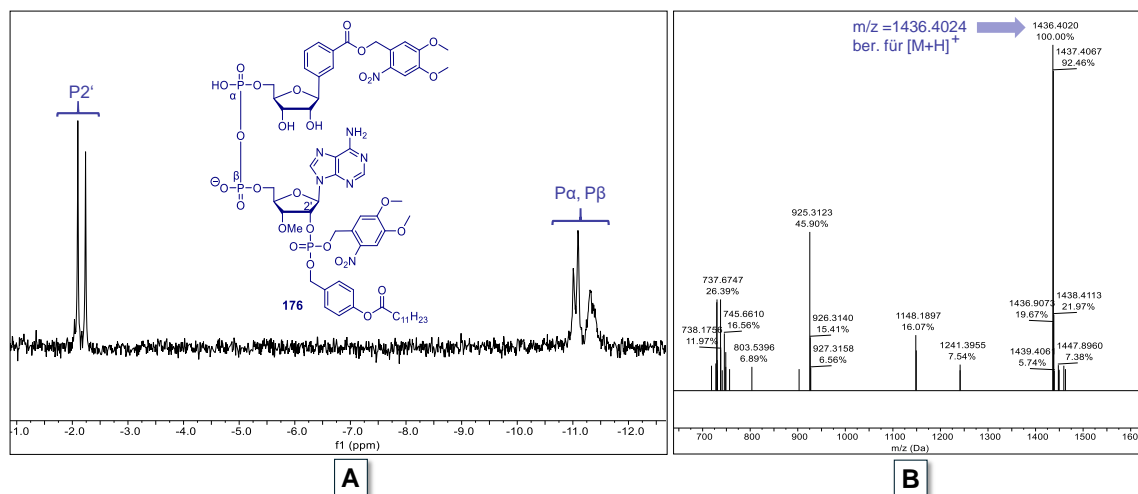
### 6.10.3 Kupplung zum NV-3'-OMe-MASTER-NAADP

Die Kupplung der beiden Monophosphat-Bausteine **162** und **171** erfolgte nach dem bereits bewährten Protokoll von MOHAMADY *et. al.* (Abbildung 6.86).<sup>[151]</sup>



**Abb. 6.86:** Reaktionsbedingungen der Kupplung zum MeNV-3'-OMe-MASTER-NAADP **176**.

Für die Kupplung wurde das obere Monophosphat **162** aktiviert, sodass nach anschließender Zugabe des Diphosphats **171** die Ausbildung der Pyrophosphatbindung und die damit verbundene Bildung des NV-MASTER-NAADP-Derivats **176** erfolgte. Jedoch konnte bei dieser Reaktion während der Reaktionsverfolgung kein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Was eventuell auf die verkürzte Aktivierung des Monophosphats vor der Zugabe des Diphosphats **171** zurückzuführen ist. Zudem war die Verfolgung der Reaktion generell schwierig, weil das im Unterschuss eingesetzte Diphosphat **171** die gleiche Retentionszeit auf der HPLC aufwies, wie der vermeintliche Produktpeak. Die Reaktion wurde nach acht Stunden beendet, da der Umsatz des Edukts **171** zu stagnieren schien. Nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte MASTER-NAADP-Derivat **176** in einer Ausbeute von 38 % isoliert werden. Die geringe Ausbeute, kann einerseits darauf zurückgeführt werden, dass während der Reaktion kein vollständiger Umsatz erzielt werden konnte, und andererseits darauf, dass das Produkt **176** während der Reinigung mit dem Diphosphat **171** koeluierte. Dies führte dazu, dass die RP-Chromatographie an RP-18-Kieselgel mehrfach und mit einem Triethylammonium-bicarbonat-Puffer erfolgte. Der Puffer wurde während der säulenchromatographischen Reinigung eingesetzt, um eine bessere Trennleistung zu erzielen.



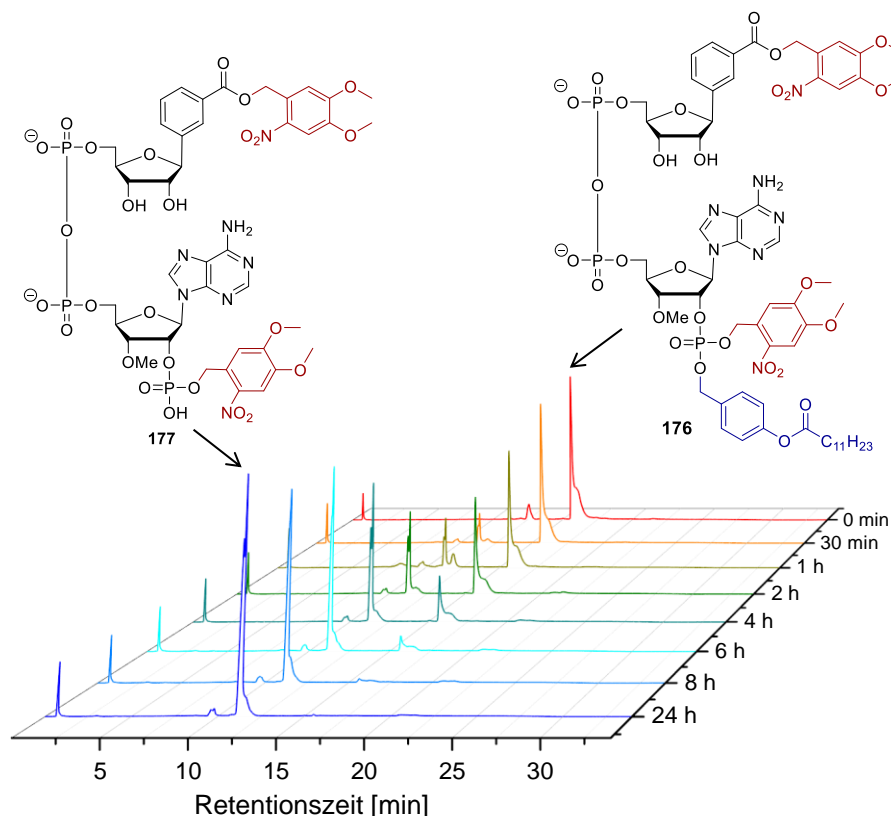
**Abb. 6.87:** Ausschnitt des  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrums (600 MHz, 25 °C,  $\text{DMSO-}d_6$ ) (A) und ein Ausschnitt des ESI-Massenspektrums (B) des NV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **176**.

In Abbildung 6.87 ist ein Ausschnitt des  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrums (A) dargestellt, in dem das Dublett mit eindeutigem Dacheffekt und die für das Dinucleotid **176** charakteristischen chemischen Verschiebungen erkennbar sind. Aufgrund des chiralen Zentrums sind zwei Diastereomere zu erwarten. Diese zwei Diastereomere sind am Kupplungsmuster der  $^{31}\text{P}$ -Signale für das 2'-Phosphat zu erkennen. Zusätzlich zur NMR-Analytik erfolgte die Identifikation des gebildeten *photocaged* NAADP-Derivats **176** durch die Aufnahme eines ESI-Massenspektrums. Das entsprechende Spektrum ist in Abbildung 6.87 (B) dargestellt.

## 6.11 Hydrolyse- und Photolyseverhalten des NV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats

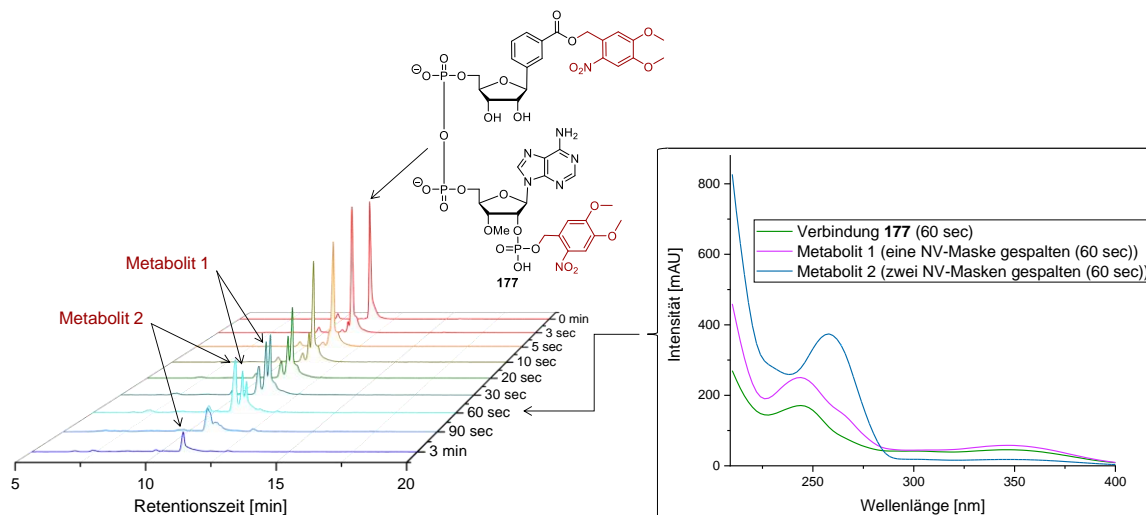
Das NV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivat **176** wurde hinsichtlich seines chemischen und enzymatischen Hydrolyseverhaltens untersucht. Im Anschluss erfolgte die Photolyse des bei der enzymatischen Hydrolyse entstandenen Metaboliten. Für die Bestimmung der chemischen Stabilität wurde das NV-Derivat **176** in physiologischem PBS-Puffer (pH = 7.3) inkubiert und für die enzymatische Stabilität erfolgte die Inkubation dieses Derivats mit PLE.

Um die enzymatische Stabilität der AB-Maske und die der NV-Maske an der Carbonsäure nachzuweisen, wurde das NV-Derivat **176** mit PLE inkubiert. Nach vollständiger Spaltung der AB-Maske sollte das Photolyseexperiment zur Spaltung der beiden NV-Masken bei einer Wellenlänge von 365 nm erfolgen. Die Hydrolysestudien erfolgten, wie bereits beim MeNV-Derivat **157** und dessen Referenzverbindung **158** nach den in Abschnitt 7.1.10 beschriebenen Bedingungen der Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsexperimente. Die Ergebnisse der Kombinationsstudie sind in Abbildung 6.88 (Hydrolyse) und Abbildung 6.89 (Photolyse) dargestellt.



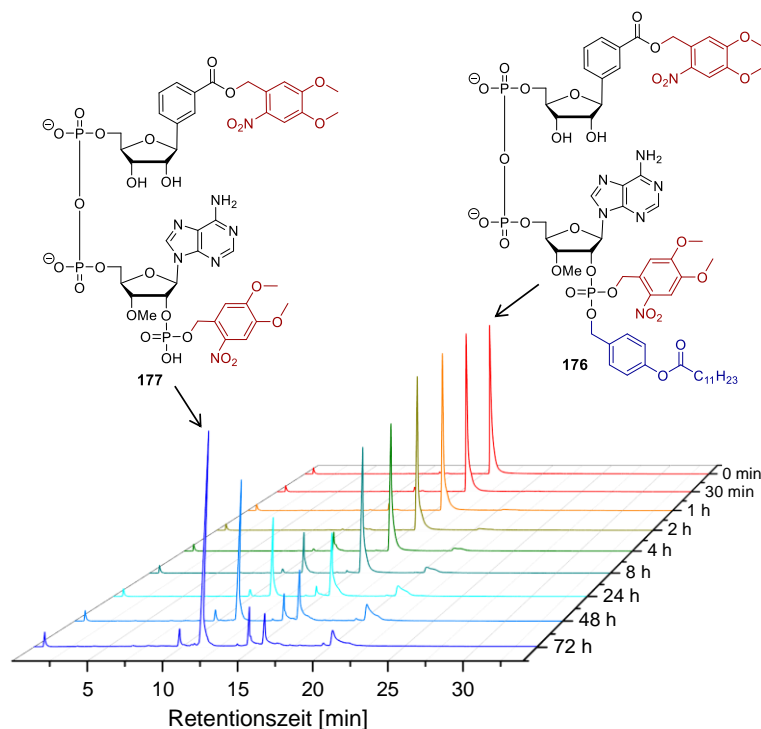
**Abb. 6.88:** Chromatogramm der enzymatischen Hydrolyse des NV-3'-OMe-MASTER-NAADPs **176** mit PLE. Es wurde eine UV/Vis-Detektion von 250 nm gewählt.

Im Verlauf der enzymatischen Hydrolyse wird das NV-3'-OMe-NAADP-Derivat **176** mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 3.0$  h abgebaut. Im Wasserfalldiagramm konnte beobachtet werden, dass das maskierte Derivat **176** nach acht Stunden vollständig hydrolysiert war. Es wurde die Spaltung der AB-Maske und die Bildung des demaskierten Metaboliten **177** beobachtet. Dieser resultierende Peak unterscheidet sich signifikant in seiner Retentionszeit vom vollständig maskierten Derivat **176**, durch seine aus der Spaltung der AB-Maske resultierenden geringeren Lipophilie. Bei der Betrachtung des Wasserfalldiagramms wird ersichtlich, dass das NV-Monophosphat **178** während der gesamten Hydrolysedauer nicht enzymatisch gespalten wird. Es ist keine Bildung eines weiteren Peaks zu beobachten, der darauf hinweist, dass die NV-Maske an der Carbonsäure unter den in diesem Hydrolyseexperiment gewählten Bedingungen gespalten wird. Nach acht Stunden Inkubation in PLE hat sich ausschließlich der Metabolit **177** gebildet, welcher im Anschluss mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm photolysiert werden soll. Das Ergebnis des Photolyseexperiments ist in Abbildung 6.89 dargestellt.



**Abb. 6.89:** Ausschnitt des Wasserfalldiagramms der Photolysereaktion von Derivat **177** und das UV-Absorptionsspektrum der drei Peaks der Photolysereaktion, nachdem das Derivat **177** für 60 Sekunden mit Licht einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt wurde (im Kasten). Es wurde eine UV/Vis-Detektion von 250 nm gewählt.

Der Peak des *photocaged* Derivats **177** zeigt eine Retentionszeit von 11.3 Minuten und ein für diese Verbindung charakteristisches UV-Absorptionsspektrum. Der Peak weist das für die Photogruppe charakteristische lokale Maximum bei ca. 350 nm auf (Abb. 6.89, grün, im Kasten). Nach Beginn der Bestrahlung der Probe, nimmt der Peak des NV-Derivats **177** mit einer ermittelten Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 31$  s ab, bis dieser nach einer gesamten Bestrahlungsdauer von drei Minuten vollständig photolysiert wurde. Für die Bestimmung der Halbwertszeiten wurde eine UV/Vis-Detektion von 250 nm gewählt. Während der Bestrahlung bildeten sich die Peaks für das einfach und das zweifach demaskierte Derivat (Abb. 6.89, Metabolit 1 und 2). Da sich an beiden Positionen die gleiche Maske befand, konnte nicht festgestellt werden, welche Maske zuerst gespalten wurde. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass nach fünf Sekunden der Bestrahlung ein zweiter Peak mit einer Retentionszeit von 11.2 Minuten entstand, gefolgt von der Bildung eines dritten Peaks bei einer Retentionszeit von 10.8 Minuten. Der Ausschnitt des Wasserfalldiagramms zeigt, wie sich der Peak von Metabolit 1 bildete und wieder abnahm, während sich der Peak von Metabolit 2 bildete. Nach drei Minuten ist nur noch der Peak von Metabolit 2 bei einer Retentionszeit von 10.8 Minuten zu erkennen. Es konnte anhand der Absorptionsspektren (Abb. 6.89, Kasten) beobachtet werden, dass die Photogruppen im Verlauf der Photolyse gespalten wurden. Die charakteristische Absorption der Photogruppe bei 350 nm, die bei der NV-Verbindung **177** (Abb. 6.89, Kasten, grün) und Metabolit 1 (Abb. 6.89, Kasten, lila) noch deutlich zu erkennen ist, ist im Absorptionsspektrum von Metabolit 2 nach 60 s Bestrahlung nicht mehr zu erkennen (Abb. 6.89, Kasten, hellblau).



**Abb. 6.90:** Chromatogramm der chemischen Hydrolyse vom NV-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivat **176** in physiologischem PBS-Puffer (pH = 7.3) zur Bestimmung der chemischen Stabilität.

Das NV-NAADP-Derivat **176** wurde zusätzlich zur enzymatischen Stabilität auch hinsichtlich seiner chemischen Stabilität untersucht. Für die Bestimmung der chemischen Stabilität wurde das NV-NAADP-Derivat **176** in physiologischem PBS-Puffer (pH = 7.3) nach dem in Abschnitt 7.1.7 beschriebenen Protokoll inkubiert. Mit zunehmender Hydrolysedauer nimmt die Peakfläche des maskierten Derivats **176** mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 23$  h ab (Abb. 6.90). Es kann aus der ermittelten Halbwertszeit auf eine ausreichende chemische Stabilität unter physiologischen Bedingungen geschlossen werden.

## 6.12 Synthese der Benzoessäure- und Benzamid-3'-OMe-MASTER-Derivate

Der Grund für die Synthese der stabilisierten C-glykosidischen NAADP-Analoga in dieser Arbeit basiert auf den zuvor gewonnenen Erkenntnissen von DEKIERT.<sup>[15]</sup> Er beschreibt, dass bei den Syntheseversuchen des maskierten nativen NAADPs die charakteristische Instabilität der N-glykosidischen Bindung der Nicotinsäure durch die Maskierung der negativen Ladung des Carboxylats verstärkt wurde.<sup>[15]</sup> Um jedoch die Bedeutung der positiven Ladung des Nicotinsäurebausteins des NAADPs zu untersuchen, sollte die Zellpermeabilität der MASTER-NAADP-Derivate untersucht werden, wenn deren oberer Baustein nicht mehr durch eine lipophile Maske geschützt wird. Falls die passive Diffusion

trotz fehlender lipophiler Maskierung in Zukunft in Zelltests beobachtet werden kann, soll die Benzoessäure durch die Nicotinsäure ersetzt werden, um zu prüfen, ob die *N*-glykosidische Bindung, wenn die Carbonsäure nicht maskiert ist, beim Kupplungsschritt stabil genug ist. Um die fehlende lipophile Maskierung an der Benzoessäureeinheit auszugleichen, sollen die beiden lipophilen Masken an der 2'-Position dahingehend modifiziert werden, dass das Molekül möglichst lipophil genug ist. Der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient ist definiert als das Verhältnis der Konzentration eines gelösten Stoffes in einer wassergesättigten oktanolischen Phase zu einer Konzentration in einer oktanolgesättigten wässrigen Phase. Mit diesem Verteilungsverhältnis kann die Lipophilie einer Verbindung ausgedrückt werden.<sup>[173]</sup> Die berechneten logP-Werte des bereits synthetisierten, dreifach lipophil maskierten 3'-OMe-MASTER-NAADPs-Derivats **100** und die für die an der Carbonsäure nicht maskierte Derivate sind in Tabelle 6.4 aufgeführt.

**Tab. 6.4:** Berechnete logP-Werte bei unterschiedlichen Kettenlängen der AB-Masken.

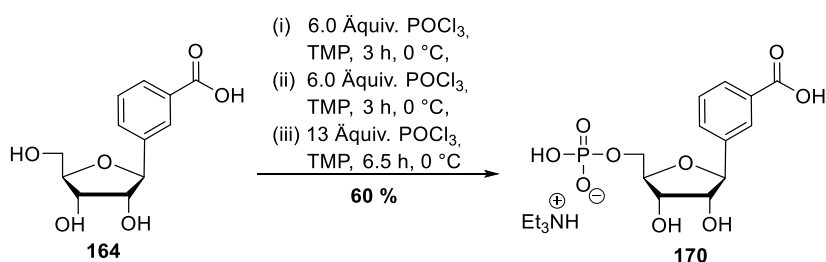
Maskierung am 2'-Phosphat	berechnete logP-Werte			
	pH 6	pH 6.5	pH 7	pH 7.5
<b>zweimal C<sub>6</sub>-AB</b>	0.06	-0.05	-0.95	-1.29
<b>zweimal C<sub>11</sub>-AB</b>	4.51	3.95	3.49	3.15
<b>3'-OMe-MASTER-NAADP 100</b>	6.99	6.91	6.88	6.87

Es ist wichtig zu erwähnen, dass die logP-Werte für eine erste Abschätzung der nötigen Lipophilie berechnet wurden, welche für die passive Diffusion der Verbindungen durch die Zellmembran erforderlich ist. Die ermittelten Werte sind jedoch keine Garantie dafür, dass die Verbindungen auch tatsächlich membranpermeabel sind, da die berechneten Werte oft ungenau sind und sich bereits in Abhängigkeit von der verwendeten Software unterscheiden können.<sup>[174]</sup> Es gilt jedoch, dass der logP-Wert bei physiologischem pH-Wert für eine gute Permeabilität größer als Null sein sollte, da ab einem Wert größer als Null von einer Diffusionsfähigkeit der betreffenden Substanz ausgegangen wird. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient ein thermodynamisches Maß für die Tendenz von Verbindungen ist, ein nicht wässriges oder öliges Milieu gegenüber Wasser zu bevorzugen, und für lipophile Substanzen positiv wird.<sup>[175]</sup> Da bereits bestätigt werden konnte (Abschnitt 6.7), dass das 3'-OMe-MASTER-NAADP **100** in Jurkat T-Zellen eine Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung induziert, wurden die berechneten logP-Werte dieser Verbindung für die weitere Syntheseplanung zum Vergleich herangezogen. Die berechneten Werte in Tabelle 6.4 lassen vermuten, dass die zuvor für die Verbindung **100** genutzten C<sub>6</sub>-AB-Masken nicht ausreichend zu sein scheinen, da die berechneten logP-Werte in diesem Fall negativ waren. Wichtig für die Wahl der Kettenlänge war, dass die maskierte Verbindung

noch wasserlöslich ist. Zudem konnte in mehreren Studien in der Arbeitsgruppe von MEIER beobachtet werden, dass bei längeren Kettenlängen die Geschwindigkeit der Spaltbarkeit abnimmt. Aus diesen Gründen soll in einem ersten Versuch das neue MASTER-NAADP-Derivat synthetisiert werden, welches am 2'-Phosphat mit zwei AB-Masken mit einer Kettenlänge von C<sub>11</sub> maskiert wird. Die berechneten logP-Werte dieser Verbindung entsprechen zwar nicht denen von Verbindung **100**, sie sind jedoch im positiven Bereich, weshalb vorerst bei dieser Verbindung von einer Membranpermeabilität ausgegangen werden kann.

### 6.12.1 Synthese des Benzoesäure-Monophosphats

Für die Synthese des Carbonsäure-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivats **178** sollte der nicht maskierte obere Baustein **170** synthetisiert werden. Die Synthese dieses Monophosphats **170** erfolgte ausgehend von der bereits synthetisierten Carbonsäure **164** nach einem in dieser Arbeit häufig genutzten Protokoll von YOSHIKAWA, wie in Abbildung 6.91 dargestellt.<sup>[143,144]</sup>

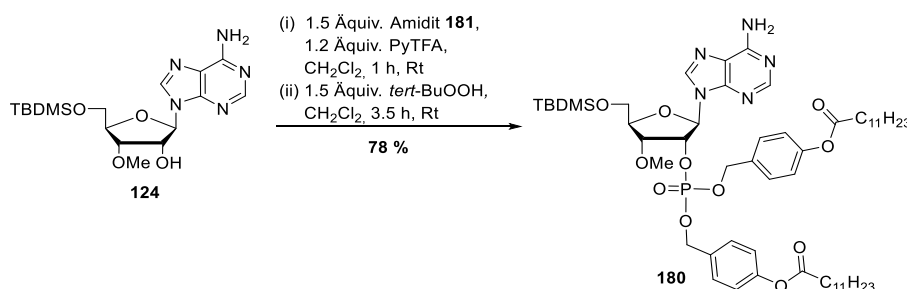


**Abb. 6.91:** Selektive 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung der 5'-monophosphorylierten Carbonsäure **170**.

Die Synthese der Carbonsäure **164** wurde bereits in Abschnitt 6.7.1 ausführlich bei der Synthese des *photocaged* Monophosphats **162** beschrieben. Für die 5'-Phosphorylierung wurde die Verbindung **164** in TMP gelöst und bei 0 °C sechs Äquivalente POCl<sub>3</sub> zugetropft. Die Reaktionsverfolgung erfolgte mittels HPLC und zeigte nach drei Stunden, dass der Umsatz des Edukts stagnierte. Aus diesem Grund wurden weitere sechs Äquivalente POCl<sub>3</sub> zugetropft. Da jedoch auch nach weiteren drei Stunden kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurden weitere 13 Äquivalente zugetropft. Nachdem anschließend der vollständige Umsatz nach weiteren 6.5 Stunden Rühren bei Raumtemperatur beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion durch die Zugabe des TEAB-Puffers beendet. Um das TMP vom Rohprodukt zu entfernen, wurde die wässrige Phase mehrfach mit Dichlormethan extrahiert und das Rohprodukt anschließend RP-säulenchromatographisch gereinigt. Dabei konnte das gewünschte Monophosphat **170** in einer Ausbeute von 60 % erhalten werden.

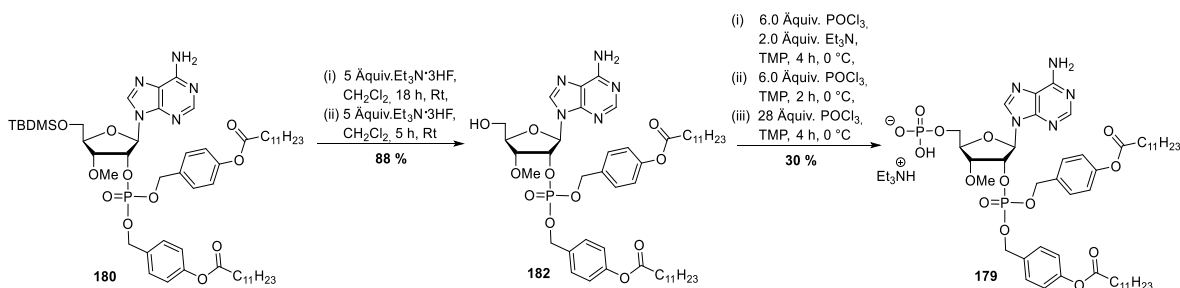
### 6.12.2 Synthese des 2'-(Bis-O-(4-dodecanoyloxybenzyl))-(3'-OMe-Adenosin)-2',5'-diphosphats

Die Synthese des 2',5'-Diphosphats **179** sollte nach dem in dieser Arbeit mehrfach verwendeten Protokoll erfolgen, bei dem zunächst das entsprechende Amidit wie in Abschnitt 6.1.2 bereits beschrieben an das TBDMS-geschützte Adenosin **124** geknüpft, die dabei entstandene Verbindung desilyliert und anschließend an der 5'-Position phosphoryliert wird. Die Reaktionsbedingungen des ersten Schritts sind in Abbildung 6.92 dargestellt.



**Abb. 6.92:** Synthese des symmetrisch geschützten 2'-Monophosphats **180** ausgehend vom 3'-OMe-Adenosin **124**.

Die Kupplung des symmetrischen Amidits **181** an die 2'-Position des Adenosin-Derivats **124** zur Darstellung des Monophosphats **180** erfolgte mit einer Ausbeute von 78 %. Die Synthese des hier eingesetzten symmetrischen Amidits **181** erfolgte ausgehend vom 4-Hydroxybenzylalkohol **27** über zwei Stufen. Die Synthese des Acyloxybenzylester erfolgte nach einem Protokoll von WITT. Der Acyloxybenzylester konnte in einer Ausbeute von 80 % erhalten werden, was ähnlich zu der von WITT beschriebenen Ausbeute von 83 % ist. Auch die erhaltenen analytischen Daten stimmten mit der Literatur überein.<sup>[152]</sup> Die Synthese des symmetrischen Amidits **181** erfolgte nach einem in der Arbeitsgruppe von MEIER häufig genutzten und ausführlich diskutierten Protokoll. Das symmetrische Amidit **181** konnte in einer Ausbeute von 64 % erhalten werden. Die Ausbeute sowie die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein.<sup>[87]</sup>



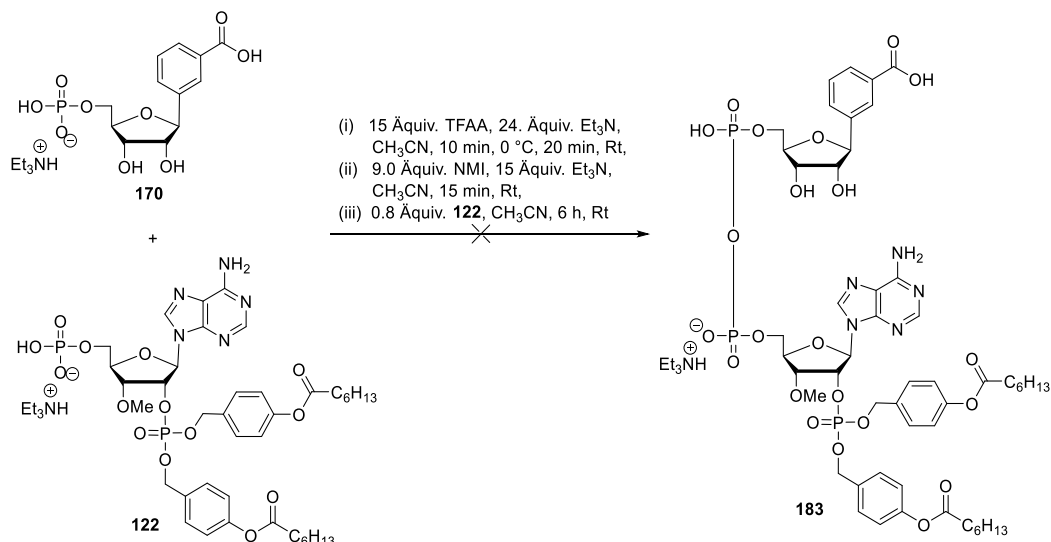
**Abb. 6.93:** Syntheschema zur TBDMS-Entschützung mit anschließender 5'-Monophosphorylierung zur Darstellung des Diphosphats **179**.

Zur selektiven Spaltung der TBDMS-Schutzgruppe wurde die Verbindung **180** mit dem Fluoridionendonator Triethylamin·Trihydrofluorid umgesetzt. Das 2'-Monophosphat **182** konnte in einer guten Ausbeute von 88 % isoliert werden. Das gewünschte Diphosphat **179** konnte nach der selektiven 5'-Phosphorylierung allerdings nur mit einer mäßigen Ausbeute von 30 % isoliert werden. Die mäßige Ausbeute ist darauf zurückzuführen, dass trotz schrittweiser Zugabe von insgesamt 40 Äquivalenten POCl<sub>3</sub> und Rühren der Reaktion für 10 Stunden kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte. Dies ist wiederum auf die mäßige Löslichkeit der Verbindung **182** aufgrund der längeren lipophilen Ketten zurückzuführen.

### 6.12.3 Kupplung der Benzoessäure-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivate

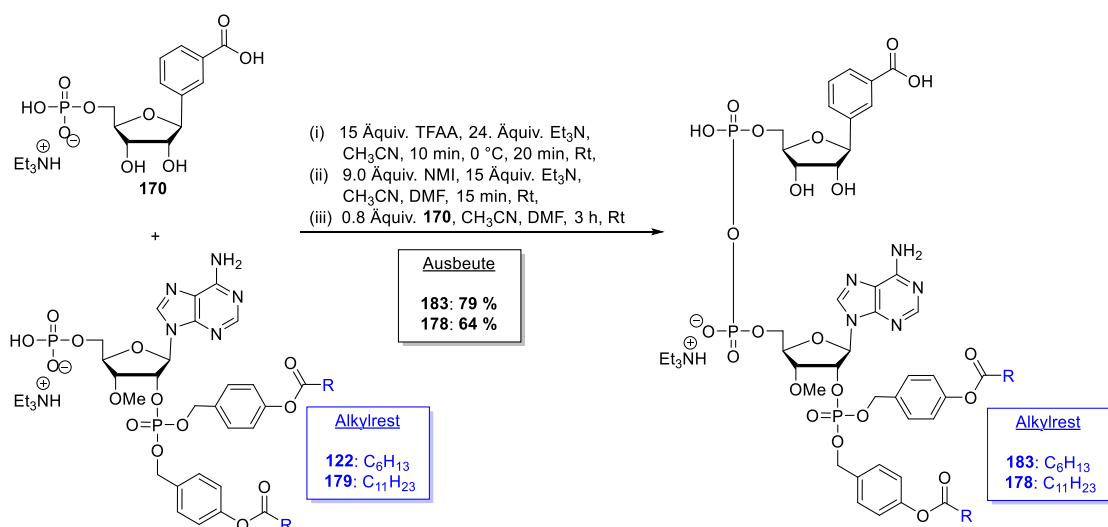
Im Anschluss an die erfolgreichen Synthesen der einzelnen Bausteine wurde nicht nur die Kupplung des C<sub>11</sub>-maskierten Derivats **178** durchgeführt, sondern auch die Kupplung zum C<sub>6</sub>-maskierten Derivat **183**, da die Synthese des Adenosinbausteins **122** wie in Abschnitt 6.4.2 beschrieben, bereits für die Synthese anderer MASTER-Derivate erfolgte und somit für die Synthese dieser Verbindung **183** nur noch der Kupplungsschritt erfolgen musste. Das Derivat **183** soll als Vergleichsprobe zum Derivat **178** synthetisiert werden, um in den biologischen Tests die Calciumfreisetzung von beiden Derivaten zu vergleichen. Das Derivat **183** sollte nach den berechneten logP-Werten unter physiologischen Bedingungen im Gegensatz zum Derivat **178** nicht in der Lage sein, passiv durch die Zellmembran zu diffundieren.

Die Carbonsäure **170** wurde im Anschluss an die symmetrisch maskierten Diphosphate **179** und **122** gekuppelt, um die beiden unterschiedlichen Benzoessäure-3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivate **183** und **178** darzustellen. Die Kupplungen erfolgten nach der in Abschnitt 6.1.4 beschriebenen Methode von MOHAMADY *et al.*, bei der eines der Monophosphate durch die Zugabe von TFAA und Methylimidazol in seine aktivierte Spezies überführt wird, um dieses mit dem zweiten nicht aktivierten Monophosphat zu kuppeln.<sup>[151]</sup>



**Abb. 6.94:** Syntheseversuch zur Kupplung der beiden Bausteine **170** und **122** für die Darstellung des Pyrophosphats **183**.

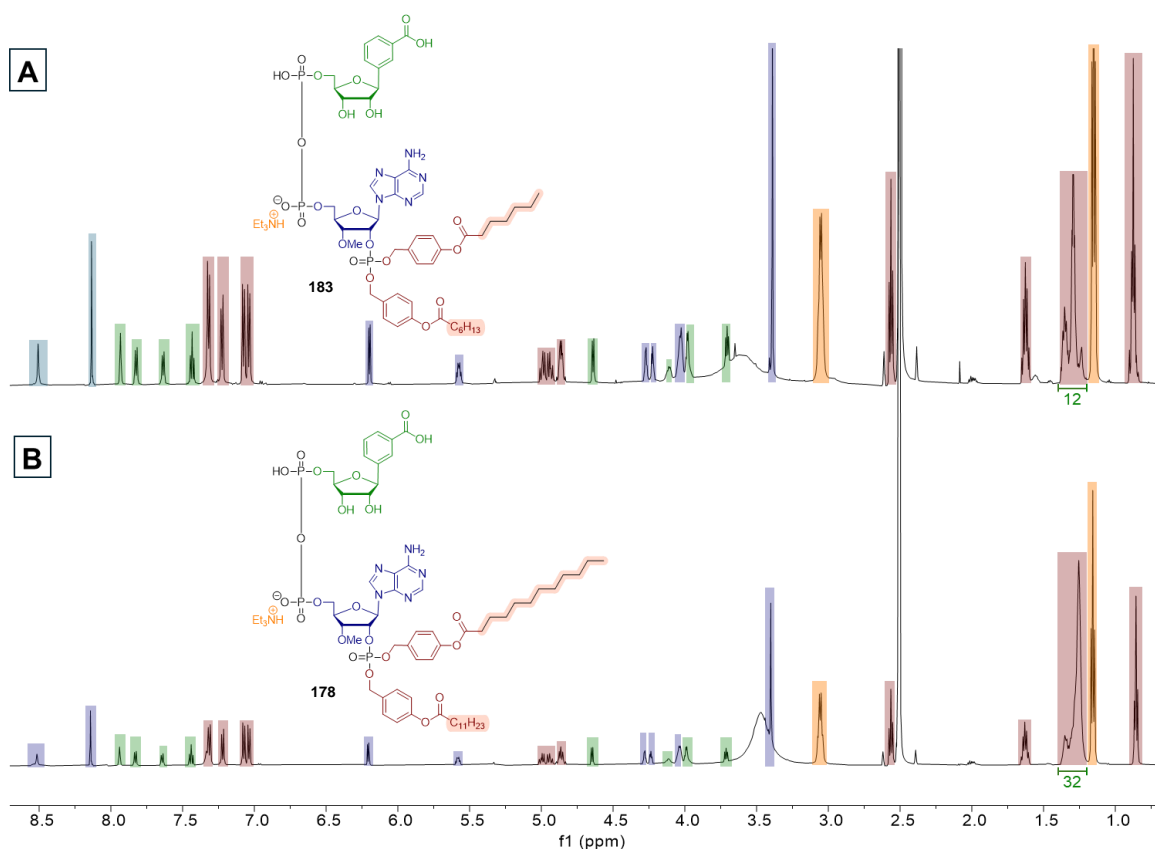
Für den ersten Syntheseversuch wurde, wie bereits bei allen in dieser Arbeit bisher durchgeführten Kupplungsschritten, der obere Baustein **170** aktiviert und das Diphosphat **122** nach der erfolgten Aktivierung zur Reaktionslösung gegeben. Jedoch konnte mit Hilfe der HPLC-Verfolgung der Reaktion die Bildung mehrerer Nebenprodukte und kein vollständiger Umsatz des Edukts beobachtet werden. Beim Reinigungsschritt wurde festgestellt, dass sich das gewünschte Produkt **183** gebildet hat. Dieses konnte jedoch von den Nebenprodukten nicht einwandfrei isoliert werden, da sie koeluierten. Aus diesem Grund erfolgte beim zweiten Kupplungsversuch die Aktivierung des Adenosinbausteins **122**, da vermutet wurde, dass die Bildung der Nebenprodukte auf die Aktivierung des oberen Bausteins **170** mit der freien Carbonsäure zurückzuführen ist. Die Reaktionsbedingungen sind in Abbildung 6.95 dargestellt.<sup>[151]</sup>



**Abb. 6.95:** Reaktionsbedingungen zur Kupplung der beiden Bausteine **170** und **122** für die Darstellung der Pyrophosphate **183** und **178**.

Für den zweiten Kupplungsversuch wurde, im Gegensatz zu den zuvor durchgeführten Kupplungsschritten, der untere Baustein **122** aktiviert und das Monophosphat **170** nach erfolgter Aktivierung zur Reaktionslösung gegeben. Bei diesem Kupplungsschritt konnte während der Reaktionsverfolgung mittels HPLC nur die Bildung des gewünschten Produktpeaks beobachtet werden. Nachdem vollständigem Umsatz des Benzoesäurebausteins **170** wurde die Reaktion durch Entfernen aller flüchtigen Komponenten unter vermindertem Druck beendet und anschließend säulenchromatographisch gereinigt. Das gewünschte MASTER-NAADP-Derivat **183** konnte mit einer Ausbeute von 79 % isoliert werden. Da die Synthese erfolgreich war, erfolgte die Kupplung des C<sub>11</sub>-Adenosinbausteins **179** nach dem gleichen Reaktionsschema. Das gewünschte Produkt **178** konnte mit einer Ausbeute von 64 % erhalten werden.

Die Bildung der beiden MASTER-NAADP-Derivate **183** und **178** konnte NMR-spektroskopisch und massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren beider Verbindungen sind in Abbildung 6.96 im direkten Vergleich dargestellt.



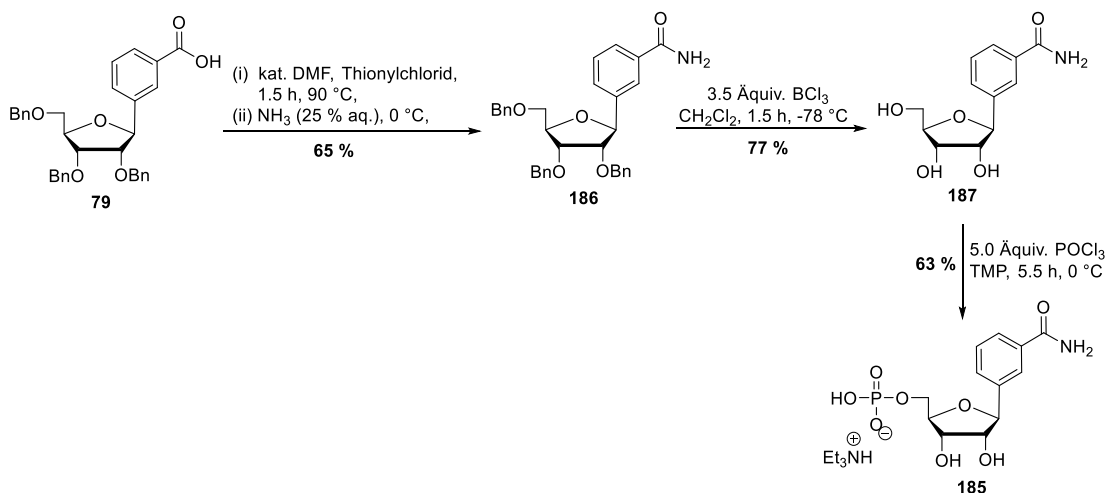
**Abb. 6.96:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Carbonsäure-3'-OMe-MASTER-NAADP-Verbindungen **183** und **178**. Die beiden Verbindungen unterscheiden sich nur in der Länge der lipophilen Masken an der 2'-Phosphatgruppe, was in den NMR-Spektren durch die Integrale der Multipletts bei ca. 1.2 ppm ersichtlich wird.

In den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren sind die für den Benzoesäurebaustein (grün) und den Adenosinbaustein (blau) charakteristischen Protonensignale zu sehen. Auch die Signale für die

lipophilen Masken (lila) sind in beiden Spektren zu finden. Die beiden Verbindungen unterscheiden sich lediglich in der Länge ihrer lipophilen Ketten, dies konnte durch die verschiedenen Integrale der Multipletts bei ca. 1.2 ppm bestätigt werden.

#### 6.12.4 Synthese des Benzamid-3'-OMe-MASTER-NADPs

Für die Synthese der Referenzverbindung **184** sollte das nicht maskierte Amid-Derivat **185** an das 3'-OMe-Adenosin-Diphosphat **179** gekuppelt werden. Die Synthese des Diphosphats **179** wurde bereits in Abschnitt 6.7.2 beschrieben. Ausgehend von der Carbonsäure **79** (Abb. 6.97) sollte die Synthese des Monophosphats **185** erfolgen. Die Synthese der Carbonsäure **79** wiederum wurde bereits in Abschnitt 6.1.3 ausführlich beschrieben. Die Reaktionsbedingungen der drei Syntheseschritte bis zum Monophosphat **185** sind in Abbildung 6.97 dargestellt.

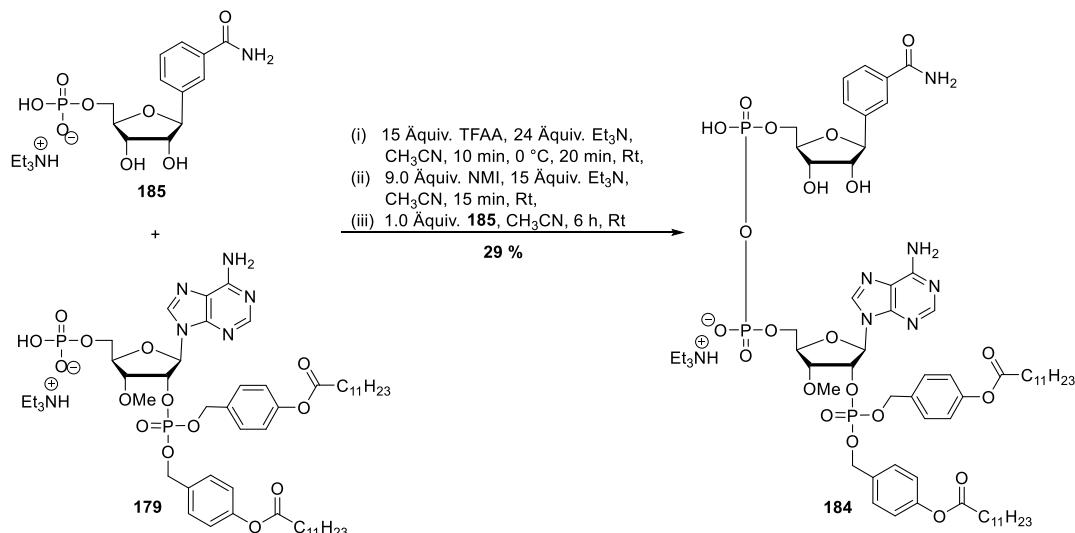


**Abb. 6.97:** Synthese des Monophosphats **185** ausgehend von der benzylgeschützten Verbindung **79**.

Die Synthese des Amids **186** erfolgte nach einem Protokoll von KROHN *et al.* (Abb. 6.97).<sup>[133]</sup> Im ersten Teilschritt der Synthese wurde die Carbonsäure **79** in ihr Säurechlorid überführt. Dafür wurde diese für 1.5 Stunden in Thionylchlorid und katalytischen Mengen DMF zum Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das gebildete Säurechlorid bei 0 °C langsam zu einer konzentrierten Ammoniaklösung (25 %ig, aq.) getropft, um das Säurechlorid zum Amid **186** umzusetzen. Nach der säulenchromatographischen Reinigung des Rohprodukts konnte das gewünschte Amid **186** mit einer Ausbeute von 65 % isoliert werden. Im nächsten Syntheseschritt wurden, analog zu den vorherigen Abschnitten, die Benzylgruppen abgespalten, um das debenzylierte Ribose-Derivat **187** zu erhalten. Die Reaktion wurde durch die Zugabe eines Methanol-Diethylether-Gemisches beendet. Die debenzylierte

Ribose **187** wurde in einer Ausbeute von 77 % erhalten. Für die selektive Monophosphorylierung wurden 5 Äquivalente  $\text{POCl}_3$  eingesetzt. Nach fünf Stunden konnte ein vollständiger Umsatz des Edukts beobachtet werden. Das 5'-Monophosphat **185** wurde nach mehrfacher RP-18-säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 63 % erhalten.

Die Kupplung erfolgte wie bereits für das NAADP-Derivat **178** nach der Aktivierung des Adenosinbausteins **179**. Die Synthesebedingungen sind in Abbildung 6.98 gezeigt.<sup>[151]</sup>



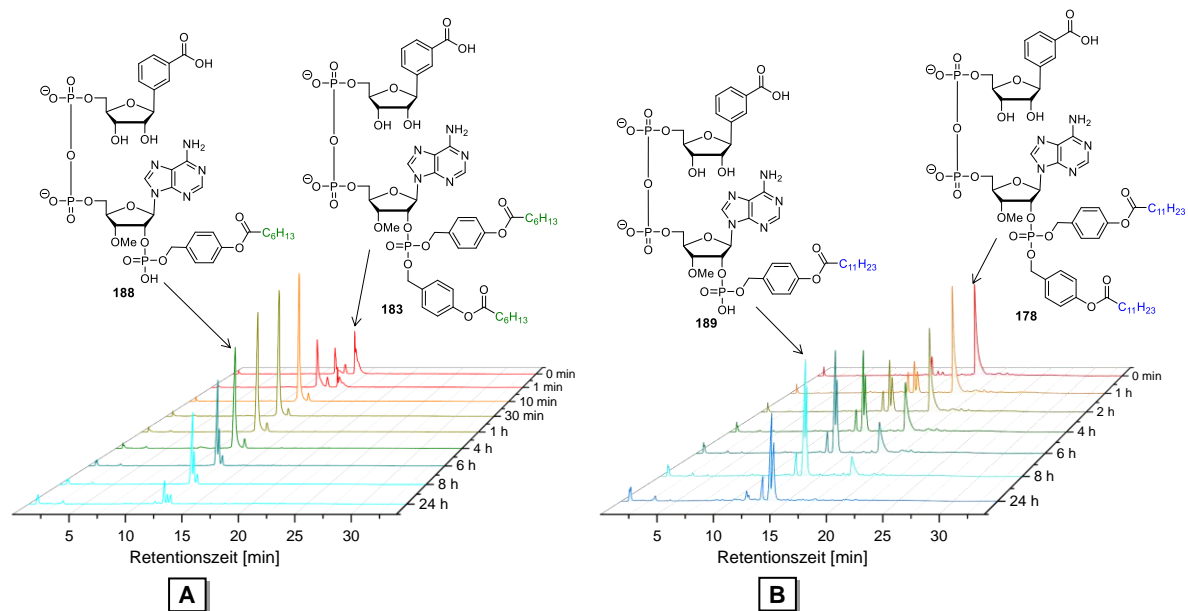
**Abb. 6.98:** Die Kupplung der Monophosphate **179** und **185** zur Darstellung des oben nicht lipophil maskierten 3'-OMe-MASTER-NADP-Derivats **184** als Referenzverbindung.

Die gewünschte Referenzverbindung **184** konnte jedoch lediglich mit einer Ausbeute von 29 % in einer hohen Reinheit isoliert werden. Dies ist auf die mehrfache säulenchromatographische Reinigung dieser Verbindung zurückzuführen, weil die Zielverbindung **184** während der RP-Chromatographie über einen längeren Zeitraum hinweg aufgefangen wurde und dadurch teilweise mit dem nicht vollständig umgesetzten Monophosphat **179** koeluierte. Auch die automatisierte RP-Chromatographie mit einem Triethylammoniumbicarbonat-Puffer konnte die Trennleistung an dieser Stelle nicht verbessern.

Die beiden synthetisierten MASTER-NAADP-Derivate **183**, **178** und die Referenzverbindung **184** wurden für die biologischen Tests in Jurkat WT T-Zellen zur Verfügung gestellt.

## 6.13 Hydrolyseverhalten der Carbonsäure- und Amid-MASTER-Derivate

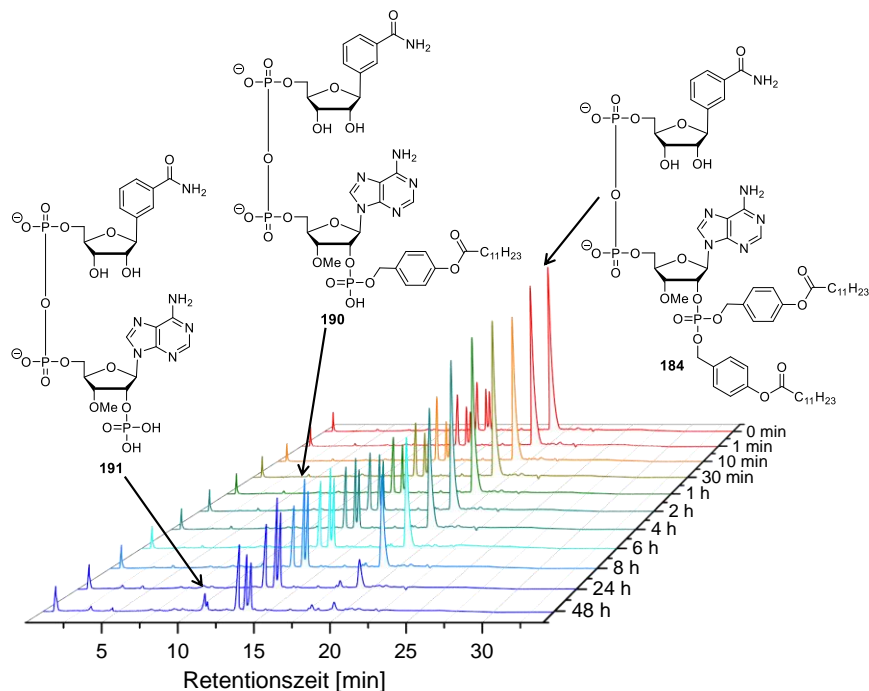
In Abbildung 6.99 sind die Verläufe der enzymatischen Hydrolysen der unterschiedlich maskierten MASTER-NAADP-Derivate **183** und **178** dargestellt.



**Abb. 6.99:** Chromatogramme der enzymatischen Hydrolysen der beiden oben nicht lipophil maskierten 3'-OMe-MASTER-NAADP-Derivate **183** (A, C<sub>6</sub>-AB) und **178** (B, C<sub>11</sub>-AB) mit PLE.

Werden die beiden Wasserfalldiagramme miteinander verglichen, wird schnell deutlich, dass der Peak des C<sub>6</sub>-maskierten Derivats **183** deutlich schneller abnimmt als der des C<sub>11</sub>-maskierten Derivats **178**. Dabei liegt die Halbwertszeit von Verbindung **183** bei 0.02 Stunden. Bereits nach einer Minute konnte die Bildung des Metaboliten **188**, welcher noch eine lipophile Maske an der 2'-Phosphatgruppe trägt, beobachtet werden. Die Peakfläche der Verbindung **178** nimmt hingegen mit einer Halbwertszeit von 5.5 Stunden ab. Auch die Bildung des zweifach demaskierten Metaboliten **189** ist hier erst nach einer Stunde zu beobachten. Die Unterschiede der beiden Halbwertszeiten korrelieren mit der bereits in vorherigen Arbeiten bestätigten Annahme, dass die Spaltungsgeschwindigkeit der lipophilen Masken mit zunehmender Kettenlänge abnimmt.<sup>[152]</sup> Im Gegensatz zu Derivat **183**, welches bereits nach wenigen Minuten hydrolysiert wurde, konnte erst nach 24 h die vollständige Hydrolyse des Derivats **178** beobachtet werden (Abb. 6.99). Die Spaltung der zweiten lipophilen Maske konnte auch nach 24 Stunden bei beiden Verbindungen unter den gewählten Hydrolysebedingungen nicht beobachtet werden.

Abbildung 6.100 zeigt die enzymatisch induzierte Spaltung der lipophilen Masken der C<sub>11</sub>-Referenzverbindung **184**.



**Abb. 6.100:** Chromatogramme der enzymatischen Hydrolyse des 3'-OMe-MASTER-NADP-Derivats **184** mit PLE.

Bei der Hydrolyse der Referenzverbindung **184** ist bereits in der ersten Messung  $t = 0$  min die Bildung des Metaboliten **190** mit einer Retentionszeit von 13.6 Minuten zu beobachten. Die vollständige Hydrolyse der Referenzverbindung **184** wurde jedoch erst nach 48 Stunden beobachtet. Die Referenzverbindung **184** weist eine Halbwertszeit von 11 Stunden auf. Außerdem kann nach 48 Stunden die Bildung eines Peaks mit einer Retentionszeit von 10.8 Minuten beobachtet werden, bei dem es sich aufgrund der Retentionszeit und des Absorptionsmusters um das vollständig demaskierte Derivat **191** handeln könnte. Diese Annahme konnte jedoch aufgrund der geringen Menge nicht mittels LC-MS bestätigt werden.

Außerdem wurde auch die chemische Stabilität der drei Derivate untersucht. Wobei, wie bereits in Abschnitt 6.6 beschrieben vorgegangen wurde. Mit zunehmender Hydrolysedauer nimmt die Peakfläche des C<sub>6</sub>-3'-OMe-Derivats **183** mit einer Halbwertszeit von 7.8 Stunden und die des C<sub>11</sub>-3'-OMe-Derivats **178** mit einer Halbwertszeit von 27 Stunden ab. Im Vergleich dazu beträgt die Halbwertszeit der chemischen Hydrolyse der Referenzverbindung **184** 21 Stunden.

## 6.14 Fazit und Ausblick

Insgesamt ist es in dieser Arbeit gelungen, aufbauend auf den Erkenntnissen von RUTHENBECK und DEKIERT, neue NAADP-Derivate und deren NADP-Referenzverbindungen zu synthetisieren. Es wurden zwei verschiedene 3'-modifizierte-NAADP-Derivate synthetisiert, um die Migration der 2'-Phosphatgruppe zu verhindern. Dafür wurde anstelle der 3'-OH-Gruppe am Adenosinbaustein ein Fluor an dieser Position eingeführt. Die Synthese des 3'-F-NAADP-Derivats **42** erfolgte über 17 Syntheseschritte mit einer Gesamtausbeute von 1 %. Die Synthese der analogen 3'-F-NADP-Referenzverbindung **99** erfolgte in Kooperation mit HOFMANN. Zusätzlich zur fluorierten Verbindung wurde ein weiteres NAADP-Derivat synthetisiert bei dem die 3'-Hydroxygruppe durch eine Methoxygruppe substituiert wurde. Dieses 3'-OMe-NAADP-Derivat **100** wurde über 17 Syntheseschritte mit einer Gesamtausbeute von 2 % synthetisiert. Auch zu diesem NAADP-Derivat **100** wurde ein 3'-OMe-NADP-Derivat **126** synthetisiert, welches in den biologischen Zelltests als Negativkontrollverbindung diente. Für die zellbiologischen Untersuchungen konnten alle Derivate in ausreichender Menge und hoher Reinheit erhalten werden. Beide NAADP-Derivate **42** und **100** induzierten erfolgreich  $\text{Ca}^{2+}$ -Mikrodomänen in Jurkat WT-Zellen. Weil das 3'-OMe-Derivat **100** in den zellbiologischen Tests vergleichbare Ergebnisse zum 3'-F-NAADP-Derivat **42** lieferte, gleichzeitig jedoch synthetisch leichter zugänglich war, erfolgten weitere Modifikationen der Masken ausgehend vom 3'-OMe-NAADP-Grundgerüst. Es konnten erfolgreich vier weitere NAADP-Derivate synthetisiert werden, die sich in ihren Maskierungseinheiten voneinander unterschieden. Das MeNV-NAADP-Derivat **157** wurde über 18 Schritte mit einer Gesamtausbeute von 2 % erhalten und das NV-NAADP-Derivat **176** wurde über 17 Schritte mit einer Gesamtausbeute von 1 % synthetisiert. Diese zwei neuartigen NAADP-Derivate und ihre analogen NADP-Referenzverbindungen bestehen aus Kombinationen der bereits verwendeten lipophilen Masken und neu eingeführten photospaltbaren Masken. Der Einsatz von MeNV- und NV-Masken bietet die Möglichkeit, sowohl eine orts- als auch eine zeitabhängige spezifische Spaltung der Photomasken mit Licht einer bestimmten Wellenlänge in der Zelle zu kontrollieren. Zusätzlich zu den photomaskierten Verbindungen wurden weitere Verbindungen synthetisiert, welche an der Carbonsäureeinheit keine ACB-Maske mehr trugen, um in Zukunft möglichst wieder zurück zur nativen Grundstruktur des NAADPs zurückzukehren. Die Kettenlängen der Maskierungseinheiten wurden modifiziert, um die erhöhte Polarität der Derivate zu kompensieren. Sollte eine Membranpermeabilität dieser Verbindung zukünftig nachgewiesen werden, soll das Benzoesäure-Motiv durch die Nicotinsäure ersetzt werden, um die Relevanz der positiven Ladung des Nicotinsäurebausteins des NAADPs zu untersuchen. Diese vier unterschiedlich maskierten Verbindungen und deren analogen NADP-Derivate wurden für biologische

Zelltests zur Verfügung gestellt, um ihre Fähigkeit zur Freisetzung von  $\text{Ca}^{2+}$  in Jurkat WT-Zellen zu untersuchen.

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Allgemeines

#### 7.1.1 Edukte und Reagenzien

Die verwendeten Chemikalien wurden ohne weitere Reinigung, wie von kommerziellen Anbietern (ABCR, Acros, Alfa Aesar, Carbosynth, Carl Roth, Fisher Scientific, Fluorochem, Merck, Sigma-Aldrich, TCI) bezogen, in Synthesequalität verwendet.

#### 7.1.2 Lösungsmittel und Puffer

Sofern nicht anders angegeben wurden alle Reaktionen unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt und es wurden für diese Reaktionen trockene Lösungsmittel verwendet. Die **trockenen Lösungsmittel** wurden von kommerziellen Anbietern (Sigma Aldrich, TCI, Acros und VWR) bezogen. **Nicht trockene Lösungsmittel**, die für wasserunempfindliche Reaktionen, Extraktionen und Säulenchromatographien verwendet wurden, wurden in technischer Qualität gekauft und vor der Verwendung unter atmosphärischem Druck destilliert. **Deuterierte Lösungsmittel** (Dimethylsulfoxid- $d_6$  (DMSO- $d_6$ ) und Acetonitril- $d_3$  ( $CD_3CN$ ) und Chloroform ( $CDCl_3$ ) wurden zum Lösen der NMR-Proben verwendet.

##### Aceton

( $C_3H_6O$ , M = 58.08 g/mol, Sdp. = 56 °C,  $\rho$  = 0.79 g/cm<sup>3</sup>)

→ absolut, bezogen von der Firma VWR.

##### Acetonitril

( $CH_3CN$ , M = 41.05 g/mol, Sdp. = 82 °C,  $\rho$  = 0.78 g/cm<sup>3</sup>)

1 → HiPerSolv CHROMANORM gradient grade for HPLC, bezogen von VWR.

2 → absolut, bezogen von der Firma Acros (max. 0.005 % H<sub>2</sub>O).

3 → deuteriert, bezogen von der Firma Eurisotop.

##### Chloroform ( $CDCl_3$ )

( $CHCl_3$ , M = 119.38 g/mol, Sdp. = 61 °C,  $\rho$  = 1.48 g/cm<sup>3</sup>)

→ absolut, bezogen von der Firma Deutero.

Dichlormethan

(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, M = 84.93 g/mol, Sdp. = 39 – 40 °C, ρ = 1.33 g/cm<sup>3</sup>)

1 → technische Qualität, bei Normaldruck destilliert.

2 → absolut, bezogen von der Firma Acros.

N,N-Dimethylformamid

(C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO, M = 73.10 g/mol, Sdp. = 153 °C, ρ = 0.95 g/cm<sup>3</sup>)

→ absolut, bezogen von der Firma Acros (max. 0.005 % H<sub>2</sub>O).

Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>)

(C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS, M = 78.13 g/mol, Sdp. = 189 °C, ρ = 1.1 g/cm<sup>3</sup>)

→ bezogen von den Firmen, Eurisotop und Deutero.

Ethylacetat

(C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>, M = 88.11 g/mol, Sdp. = 77 °C, ρ = 0.90 g/cm<sup>3</sup>)

→ technische Qualität, bei Normaldruck destilliert.

Methanol

(CH<sub>3</sub>OH, M = 32.04 g/mol, Sdp. = 64 °C, ρ = 0.79 g/cm<sup>3</sup>)

1 → technische Qualität, bei Normaldruck destilliert.

2 → absolut, bezogen von der Firma Acros (max. 0.005 % H<sub>2</sub>O).

3 → deuteriert, bezogen von der Firma Deutero.

Petrolether (50 – 70 °C)

→ technische Qualität, bei Normaldruck destilliert.

Pyridin

(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, M = 79.10 g/mol, Sdp. = 115 °C, ρ = 0.98 g/cm<sup>3</sup>)

→ bezogen von Sigma Aldrich.

→ absolut: bezogen von der Firma Acros (max. 0.005 % H<sub>2</sub>O).

Tetrahydrofuran

(C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O, M = 72.11 g/mol, Sdp. = 65 – 66 °C, ρ = 0.89 g/cm<sup>3</sup>)

→ absolut: bezogen von der Firma Acros (max. 0.005 % H<sub>2</sub>O).

Alle weiteren Lösungsmittel, die an dieser Stelle nicht aufgeführt wurden, wurden von kommerziellen Anbietern in analytischer Qualität bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet.

Alle **Puffer** wurden mit Reinstwasser angesetzt.

Für den *Triethylammoniumbicarbonat-Puffer* (TEAB, 1 M) wurden 139.6 mL Triethylamin mit Wasser auf 1.0 L aufgefüllt und im Anschluss Kohlenstoffdioxid eingeleitet, bis der Puffer auf einen pH-Wert von 8 eingestellt ist.

Für den *Tetrabutylammoniumacetat-Puffer* (TBAA, 2 mM) wurden 2.4 L Wasser mit 12.7 mL einer 1.5 M Lösung aus Tetrabutylammoniumhydroxid in Wasser (ca. 10 %) versetzt. Zu dieser Lösung wurde Essigsäure (1 M) getropft, bis sich ein pH-Wert von 6.0 eingestellt hat.

### 7.1.3 Chromatographie

#### Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurde eine mit Kieselgel und Fluoreszenzindikator beschichtete Aluminiumfolie (Macherey-Nagel ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254 Nr. 818333; Schichtdicke 0.2 mm) für die Dünnschichtchromatographie verwendet. Die Laufstrecke betrug 4 – 6 cm und die  $R_f$ -Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Verbindungen erfolgte mit Hilfe einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm. Die nicht UV-aktiven Verbindungen ließen sich mit Hilfe verschiedener Färbereagenzien (Cerammoniumnitrat, Kaliumpermanganat und Vanillin) und anschließender Wärmebehandlung visualisieren.

#### Säulenchromatographie

Für die säulenchromatographischen Trennungen wurde als stationäre Phase Kieselgel (Korngröße: 60 M, 40 – 63  $\mu\text{m}$ , 230-400 mesh) der Firma Fluka verwendet.

#### Ionenaustauschchromatographie

Zum Austausch der Gegenionen (Kationen) wurde Ionentauscherharz DOWEX 50W-X80, 50-100 mesh der Firma Sigma-Aldrich verwendet.

#### Automatisierte *reversed phase*-Chromatographie

Für die RP-Chromatographie wurde die automatisierte Interchim puriFlash®-Anlage vom Typ 430 mit UV-Detektor verwendet. Es wurden dabei Chromabond® Flash RS 40 C<sub>18</sub> ec Säulen der Firma Macherey-Nagel eingesetzt.

### Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography)

Die analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) wurde auf einem Agilent 1260 Infinity II System mit Mehrsäulenthermostat (20 °C) unter Verwendung einer C<sub>18</sub>-Säule (EC 125/3 Nucleodur 100-5 C<sub>18</sub> ec der Firma Macherey-Nagel) durchgeführt.

<b>Software:</b>	Agilent OpenLab CDS
<b>Pumpe:</b>	1260 Quat Pump VL
<b>Autosampler:</b>	1260 Vialsampler
<b>Detektor:</b>	1260, Dioden Array, Detector (DAD) 1260 FLD Spectra, Fluoreszenz Detektor (FLD)

Für die HPLC-Anwendungen wurde Acetonitril mit einem Reinheitsgrad von „HPLC grade“ der Firma VWR sowie Reinstwasser (Milli-Q) für das Ansetzen der Pufferlösungen verwendet.

#### **HPLC-Methode:**

Flussrate: 1.0 mL/min,

HPLC-Säule: Nucleodur 100-5 C<sub>18</sub> ec, UV-Detektion bei einer Wellenlänge von 270 nm.

- Von 0 bis 20 min: TBAA-Laufpuffer (2 mM) mit einem CH<sub>3</sub>CN gradienten (5-80 %),  
von 20 bis 30 min: isokratisch (20 % TBAA-Laufpuffer, 80 % CH<sub>3</sub>CN),  
von 33 bis 38 min: isokratisch (95 % TBAA-Laufpuffer, 5 % CH<sub>3</sub>CN).

## **7.1.4 Spektroskopie und Spektrometrie**

### Infrarotspektroskopie (IR)

Die Messung der IR-Spektren erfolgte mit Hilfe eines Alpha-P IR-Spektrometers der Firma Bruker bei Raumtemperatur in einem Messbereich von 400 – 4000 cm<sup>-1</sup>.

### Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte in der NMR-Abteilung des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Dr. Thomas Hackl. <sup>1</sup>H-NMR: Bruker Fourier-300 (300 MHz), Bruker AV3400 (400 MHz), Bruker AV500 (500 MHz), Bruker AV3600 (600 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  = 7.26 ppm), CH<sub>3</sub>OD ( $\delta$  = 4.87 ppm) oder DMSO-*d*<sub>6</sub> ( $\delta$  = 2.50 ppm). Die Aufnahmen erfolgten über einen Messbereich von 0 bis 16 ppm. <sup>13</sup>C-NMR: Fourier-300 (75 MHz), AV3400 (101 MHz), Bruker AV500 (126 MHz), Bruker AV3600 (151 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  = 77.00 ppm), CH<sub>3</sub>OD ( $\delta$  = 49.00 ppm) oder DMSO-*d*<sub>6</sub> ( $\delta$  = 39.52 ppm). Es wurden Messwerte im Bereich von 0 bis 200 ppm aufgenommen. <sup>31</sup>P-NMR: Bruker AV 400 (162 MHz), Bruker AV500 (202 MHz), Bruker AV3600 (243 MHz). Es erfolgte keine Standardisierung. Es wurden Messwerte im Bereich von -200 bis 200 ppm aufgenommen. <sup>19</sup>F-NMR: Bruker AV3600 (565 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen

Standard von Trifluoressigsäure. Es wurden Messwerte in einem Bereich von -200 bis 250 ppm aufgenommen.

Die Zuordnung der Nummerierung der Atome in der folgenden Auswertung erfolgt nicht nach der IUPAC-Nomenklatur, sie wurde nach eigenem Ermessen gewählt.

#### Massenspektrometrie (MS)

Die Massenspektren wurden in der massenspektrometrischen Abteilung des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Dr. Jennifer Menzel aufgenommen. Die hochaufgelösten (HR: *high resolution*) ESI-Massenspektren wurden mit einem Agilent 6224 ESI-TOF-Spektrometer der Firma Agilent Technologies gemessen. Die EI-Massenspektren wurden mit einem Thermo ISQ LT EI-Spektrometer gemessen.

### **7.1.5 Weitere Geräte**

#### Gefriertrocknung

Für die Gefriertrocknung von wässrigen Lösungen wurde eine Christ ALPHA 2 – 4 LDPlus Gefriertrocknungsanlage verwendet.

#### Wasseraufbereitungsanlage

Reinstwasser (Milli-Q) wurde unter UV-Bestrahlung mit einem Arium® pro UV-Reinstwassersystem (Sartopore 0.2 µM) der Firma Sartorius gewonnen.

#### Thermomixer

Es wurde zur Inkubation der Hydrolyselösungen ein Thermomixer TS basic der Firma CellMedia verwendet.

#### Photolyselampen

Die 365 nm UV LED wurde von der Firma Sahlmann Photochemical Solution bezogen. Es handelt sich bei den LED-Lampen um drei 1.3 W UV-LEDs vom Typ NVSU233A-U365, welche trigonal auf einem passiven Kühlkörper fixiert sind. Die Leistung jeder LED beträgt 1.3 W, sodass sich eine Gesamtleistung von 3.9 W ergibt.

Die 405 nm UV LED wurde von der Firma Sahlmann Photochemical Solutions bezogen. Es handelt sich bei den LED-Lampen um drei 1.4 W UV-LED vom Typ NVSU233A-405, welche trigonal auf einem passiven Kühlkörper fixiert sind. Die Leistung jeder LED beträgt 50 mW, sodass sich eine Gesamtleistung von 150 mW ergibt.

### 7.1.6 Molekulare Modellierung

Die molekulare Modellierung der verschiedenen Verbindungen erfolgte mit dem Programm SCHRÖDINGERS MAESTRO (Version 12.6). Die Liganden wurden mit dem LigPrep-Modul von MAESTRO erzeugt. Die Überlagerung der Strukturen wurde mit dem Liganden-Alignment-Modul von MAESTRO erzeugt.

### 7.1.7 Hydrolysestudien in PBS-Puffer

Für die Studien zur Untersuchung der chemischen Stabilität der verschiedenen MASTER-NAADP- und MASTER-NADP-Derivate wurden maskierten Verbindungen in PBS-Puffer (Dullbecco's Phosphate Buffered Saline der Firma Gibco) bei 37 °C inkubiert. Als Stammlösung diente eine 50 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in DMSO. Anschließend wurde eine Inkubationslösung mit finalen Volumina von (A) oder (B) hergestellt:

(A) 610 µL (0.92 mM), dafür wurden 11.2 µL der Stammlösung zu einem Gemisch aus 305 µL PBS-Puffer, 192.2 µL Wasser und 101.7 µL DMSO gegeben.

(B) 374 µL (0.92 mM), dafür wurden 6.9 µL der Stammlösung zu einem Gemisch aus 187.0 µL PBS-Puffer, 117.8 µL Wasser und 62.3 µL DMSO gegeben.

Die Inkubation erfolgte ohne internen Standard im Thermomixer. Ein zu Beginn entnommenes Aliquot dieser Lösung dient als Nullprobe. Nach definierten Zeitabständen wurden Aliquote von 35 µL (A) oder 22 µL (B) (Injektionsvolumen: 30 µL (A) oder 18 µL (B)) für die HPLC-Analyse entnommen.

### 7.1.8 Enzymatische Hydrolysestudien mit PLE

Für die Studien zur Untersuchung der enzymatischen Stabilität der verschiedenen MASTER-NAADP- und MASTER-NADP-Derivate wurden die maskierten Verbindungen in Schweineleberesterase (PLE) Lösung bei 37 °C inkubiert.

Als Stammlösung diente eine 50 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in DMSO. Anschließend wurde eine Inkubationslösung mit einem finalen Volumen von 840 µL (0.45 mM) hergestellt. Dafür wurden 7.6 µL der Stammlösung zu einem Gemisch aus 634.0 µL PBS-Puffer, 150.9 µL DMSO und 47.5 µL der zuvor angesetzten PLE-Lösung (100 U/mL) gegeben.

Die Inkubation erfolgte ohne internen Standard im Thermomixer. Ein zu Beginn entnommenes Aliquot dieser Lösung diente als Nullprobe. Nach definierten Zeitabständen wurden Aliquote von 60 µL entnommen und mit 120 µL gekühltem CH<sub>3</sub>CN versetzt. Es

erfolgte die 5-minütige Lagerung der Lösung auf Eis und anschließend wurde die Probe zentrifugiert (16000 rpm, 4 °C, 10 min). Der erhaltene Überstand wurde über einen Spritzenfilter (Chromafil RC-20/15 MS, 0.2 µm der Firma Macherey-Nagel) filtriert. Von der durch diesen Prozess erhaltenen Probenlösung wurden 65 µL (Injektionsvolumen: 60 µL) für die HPLC-Analyse entnommen.

### **7.1.9 Photolysestudien**

Als Stammlösung diente eine 50 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in DMSO. Für die Photolyse wurde eine Reaktionslösung mit einem Volumen von 1000 µL und einer Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM hergestellt. Dazu wurden 812 µL Phosphatpuffer (pH 7.4), 179 µL Dimethylsulfoxid und 9 µL der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung wurde zu Beginn als Nullprobe entnommen. Anschließend wurde die Lösung in ein transparentes Glas-Vial überführt und dieses vor die UV-Lampe positioniert. Die Bestrahlung der Lösung mit der entsprechenden UV-Lampe erfolgte unter ständigem Rühren. Nach definierten Zeitintervallen wurde die Bestrahlung unterbrochen, um ein Aliquot (65 µL) für die HPLC-Analyse zu entnehmen (Injektionsvolumen: 60 µL). Nach erfolgreicher Entnahme des jeweiligen Aliquots wurde die Bestrahlung der Probe fortgesetzt.

### **7.1.10 Hydrolyse-Photolyse-Kombinationsstudien**

Als Stammlösung diente eine 50 mM Lösung des zu untersuchenden Analyten in DMSO. Für die Photolyse hat sich für die Reaktionslösung ein höheres Volumen von ca. 1540 µL mit einer Analyt-Konzentration von ca. 0.45 mM bewehrt. Dafür wurden zuerst 1162.3 µL Phosphatpuffer (pH 7.4), 276.6 µL Dimethylsulfoxid und 87.2 µL der Analyt-Stammlösung gemischt. Ein Aliquot dieser Lösung diente als Nullprobe. Die Inkubation erfolgte ohne internen Standard im Thermomixer. Nach definierten Zeitabständen wurden Aliquots von 60 µL entnommen und mit 120 µL gekühltem CH<sub>3</sub>CN versetzt. Es erfolgte die Lagerung der Lösung auf Eis für einen Zeitraum von fünf Minuten und anschließend wurde die Probe zentrifugiert (16000 rpm, 4 °C, 10 min). Der erhaltene Überstand wurde über einen Spritzenfilter (Chromafil RC-20/15 MS, 0.2 µm der Firma Macherey-Nagel) filtriert. Von der durch diesen Prozess erhaltenen Probenlösung wurden 65 µL (Injektionsvolumen: 60 µL) für die HPLC-Analyse entnommen. Nach dem die enzymatische Hydrolyseexperimente abgeschlossen waren, wurde die restliche Inkubationslösung in ein transparentes Glas-Vial überführt und im Anschluss vor der UV-Lampe für die Photolyseexperimente platziert. Unter kontinuierlichem Rühren erfolgte die Bestrahlung der Inkubationslösung mit der

entsprechenden UV-Lampe. Die Bestrahlungen wurden nach definierten Zeitabständen unterbrochen und jeweils ein Aliquot (60  $\mu\text{L}$ ) für die HPLC-Analyse entnommen und im Anschluss wurde die Photolyse wieder fortgesetzt. Die Probenvorbereitung erfolgt nach der Entnahme auf die gleiche Weise, wie bereits beim Hydrolyseteil beschrieben. Im Anschluss wurden auch hier 65  $\mu\text{L}$  (Injektionsvolumen: 60  $\mu\text{L}$ ) aus der durch diesen Prozess erhaltenen Probenlösung für die HPLC-Analyse entnommen.

## 7.2 Synthesen

### 7.2.1 Synthese des 3'-F-Adenosinmonophosphats

#### Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-D-xylofuranose (66)

Es wurden 20 g D-Xylose **54** (0.13 mol, 1.0 Äquiv.) in 600 mL abs. Aceton suspendiert. Unter Eiskühlung wurden 2.0 g Kupfersulfat (13 mmol, 0.10 Äquiv.) zugegeben und 20 mL konz. Schwefelsäure (37 g, 0.38 mol, 2.8 Äquiv.) langsam zugetropft. Anschließend wurde der Reaktionsansatz für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem die Suspension filtriert, der Rückstand mit Aceton gewaschen und das Filtrat mit 25 %-iger Ammoniaklösung neutralisiert wurde, wurde unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in 250 mL einer 0.2 %-igen Salzsäure-Lösung gelöst und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur für 6 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert, die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert und das Wasser unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  50:1 v/v  $\rightarrow$   $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  10:1 v/v), ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  100:1 v/v  $\rightarrow$   $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  10:1 v/v).

**Ausbeute:** 25 g (0.13 mol, 99 %) eines farblosen Öls. **DC:**

$R_f$ -Wert ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  50:1 v/v): 0.14.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm]

(600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 5.80 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, 1H, H-1), 5.14 (d,

$^3J_{\text{HH}} = 4.8$  Hz, 1H, 3-OH), 4.61 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 5.7$  Hz, 1H, 5-OH),

4.37 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, 1H, H-2), 4.01-3.92 (m, 2H, H-3, H-4),

3.60 (ddd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6$  Hz, 1H, H-5<sub>a</sub>),

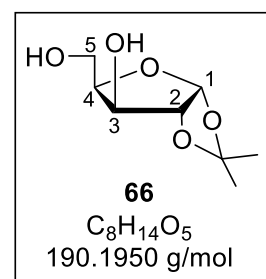
3.55-3.44 (m, 1H, H-5<sub>b</sub>), 1.37 (s, 3H,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 1.22 (s, 3H,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm]

(151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 110.6 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ), 104.7 (C-1), 85.5 (C-2), 81.8 (C-4), 73.9 (C-3), 59.3

(C-5), 27.2 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ), 26.6 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3395, 2986, 2937, 1455, 1375,

1294, 1253, 1213, 1163, 1068, 1004, 903, 885, 857, 825, 787, 738, 633, 565, 509, 455,

425; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 213.0733 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>, gef.: 213.0730 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-3,5-di-O-benzyl-D-xylofuranose (64)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurde bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  eine Lösung aus 0.95 g 1,2-O-Isopropyliden-D-xylofuranose **66** (5.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. THF zu einer Suspension aus 0.30 g NaH (13 mmol, 2.5 Äquiv.) in 12 mL THF getropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 45 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bis die  $\text{H}_2$ -Gasentwicklung beendet war. Es wurden 1.3 mL Benzoylbromid (1.9 g, 11 mmol, 2.2 Äquiv.) langsam zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde für 45 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und weitere 4 h bei Raumtemperatur. Es wurden anschließend unter Eiskühlung gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung unter Rühren zugegeben und die wässrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 20:1 v/v  $\rightarrow$  PE/EE 10:1 v/v  $\rightarrow$  PE/EE 5:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.8 g (4.8 mmol, 95 %) eines farblosen

amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 10:1 v/v):

0.30;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 7.40-

7.24 (m, 10H, H-8, H-9, H-10), 5.86 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9\text{ Hz}$ ,

1H, H-1), 4.71 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9\text{ Hz}$ , 1H, H-2), 4.65 (d,  $^2J_{\text{HH}}$

= 11.9 Hz, 1H, H-6), 4.55-4.44 (m, 3H, H-6), 4.25-4.20

(m, 1H, H-4), 3.91 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2\text{ Hz}$ , 1H, H-3), 3.71 (dd,

$^2J_{\text{HH}} = 10.2\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0\text{ Hz}$ , 1H, H-5), 3.59 (dd,  $^2J_{\text{HH}}$

= 10.2 Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7\text{ Hz}$ , 1H, H-5'), 1.38 (s, 3H,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 1.25 (s, 3H,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$** :

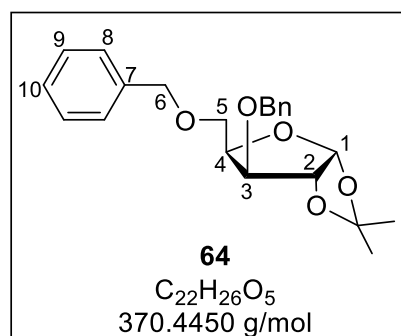
$\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 138.2, 137.8 (C-7), 128.2, 128.2, 127.6, 127.6, 127.4 (C-8,

C-9, C-10), 110.6 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ), 104.4 (C-1), 81.4, 81.3 (C-2, C-3), 78.7 (C-4), 72.4, 70.8 (C-

6), 67.5 (C-5), 26.5, 26.0 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3064, 3030, 2986, 2932, 2866, 1497,

1454, 1373, 1348, 1309, 1251, 1213, 1164, 1072, 1012, 888, 856, 819, 733, 696, 634, 603,

538, 508, 465; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 393.1672 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>, gef.: 393.1676 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.


**Darstellung von 1,2,5-Tri-O-Acetyl-3-O-benzyl-D-xylofuranose (63)**

Zu einer auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung aus 0.66 g 1,2-O-Isopropyliden-3,5-di-O-benzyl-D-xylofuranose **64** (1.8 mmol, 1.0 Äquiv.) und 0.90 mL Essigsäureanhydrid (1.0 g, 9.5 mmol, 5.3 Äquiv.) in 7.0 mL Essigsäure wurden 0.45 mL Schwefelsäure (0.82 g, 8.4 mmol, 4.7 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde 24.5 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde unter Kühlung gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch für 15 min gerührt. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat

getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 6:1 v/v → PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.54 g (1.5 mmol, 82 %) eines farblosen

amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.19;

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 7.39-7.28 (m, 10H,

H-8, H-9, H-10), 6.28 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.7$  Hz, 1H, H-1,  $\alpha$ ), 6.01 (s,

1H, H-1,  $\beta$ ), 5.20-5.16 (m, 2H, H-2,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.75-4.54 (m, 4H,

H-6,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.52-4.46 (m, 2H, H-4,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.40-4.36 (m, 1H, H-

3,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.29-4.24 (m, 2H, H-5,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.23-4.19 (m, 1H, H-3,

$\beta$ ), 4.18-4.08 (m, 2H, H-5',  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 2.09-1.99 (m, 18H,

$\text{C(O)CH}_3$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 170.1,

170.1, 169.5, 169.5, 169.2, 169.1 ( $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 137.7, 137.7 (C-7,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 128.3, 127.7,

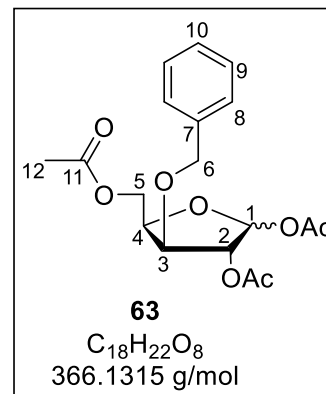
127.7, 127.5, 127.5 (C-8, C-9, C-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 98.9 (C-1,  $\beta$ ), 92.7 (C-1,  $\alpha$ ), 80.2, 80.0 (C-3, C-4,

$\beta$ ), 79.2, 78.8 (C-2,  $\beta$  C-3,  $\alpha$ ), 76.1, 75.9 (C-2, C-4,  $\alpha$ ), 71.6, 71.3 (C-6,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 63.0, 62.4 (C-

5,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 20.9, 20.7, 20.6, 20.6, 20.3 ( $\text{C(O)}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2939, 1737, 1497, 1454,

1369, 1211, 1114, 1006, 880, 738, 699, 646, 602, 561, 506, 428; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.:

389.1207 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>, gef.: 389.1206 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.



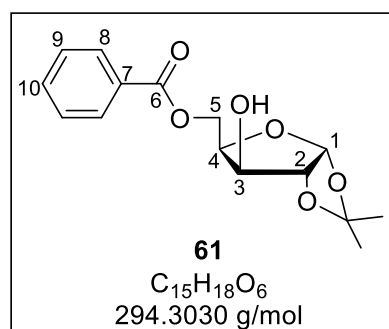
**Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-5-O-benzoyl-D-xylofuranose (61)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.1 g 1,2-O-Isopropyliden-D-xylofuranose **66** (6.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst. Unter Eiskühlung wurden 1.3 mL abs. Triethylamin (0.91 g, 9.0 mmol, 1.5 Äquiv.) zugegeben und 0.76 mL Benzoylchlorid (0.93 g, 6.6 mmol, 1.1 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde eine Stunde bei 0 °C gerührt, anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und die organische Phase zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 4:1 v/v → PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.6 g (5.5 mmol, 92 %) eines farblosen amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.27;

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.01-7.95 (m, 2H, H-8), 7.70-7.65 (m, 1H, H-10), 7.57-7.52 (m, 2H, H-9), 5.89 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 5.49 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz, 1H, OH-3), 4.50-4.44 (m, 2H, H-5, H-2), 4.38-4.31 (m, 2H, H-5', H-4), 4.13 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz, 1H, H-3), 1.40 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.25 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (125 MHz, DMSO- $d_6$ ): 165.6 (C-6), 133.4 (C-10), 129.5 (C-7), 129.2 (C-8), 128.8 (C-9), 110.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 104.6 (C-1), 85.0 (C-2), 78.2 (C-4), 73.7 (C-3), 63.1 (C-5), 26.7, 26.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3421, 2991, 2947, 1714, 1600, 1585, 1449, 1378, 1355, 1345, 1318, 1272, 1257, 1213, 1178, 1162, 1122, 1108, 1091, 1070, 1059, 1014, 996, 977, 942, 885, 854, 837, 813, 748, 707, 686, 659, 638, 613, 578, 548, 511, 447, 422; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 317.0996 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 317.0998 [M+Na]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-3-O-tosyl-5-O-benzoyl-D-xylofuranose (60)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.44 g 1,2-O-Isopropyliden-5-O-benzoyl-D-xylofuranose **61** (1.5 mmol, 1.0 Äquiv.) in 5 mL abs. Pyridin gelöst und 0.94 g Tosylchlorid (5.0 mmol, 3.3 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 15 h bei 0 °C gerührt, anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 6:1).

**Ausbeute:** 0.48 g (1.1 mmol, 71 %) eines farblosen

amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 6:1 v/v):

0.33;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.93-7.88

(m, 2H, H-8), 7.79-7.75 (m, 2H, H-12), 7.59-7.54 (m,

1H, H-10), 7.44-7.39 (m, 2H, H-9), 7.25-7.19 (m, 2H,

H-13), 5.99 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 4.93 (d,  $^3J_{\text{HH}}$

= 2.9 Hz, 1H, H-3), 4.93 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, 1H, H-2),

4.54 (td,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.9$  Hz, 1H, H-4), 4.40 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, 1H,

H-5), 4.28 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, 1H, H-5'), 2.27 (s, 3H, H-15), 1.50 (s, 3H,

$\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.32 (s, 3H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165.9 (C-6), 145.7

(C-14), 133.4 (C-10), 132.6 (C-11), 130.2, 129.9 (C-8, C-13), 129.5 (C-7), 128.5, 128.0 (C-

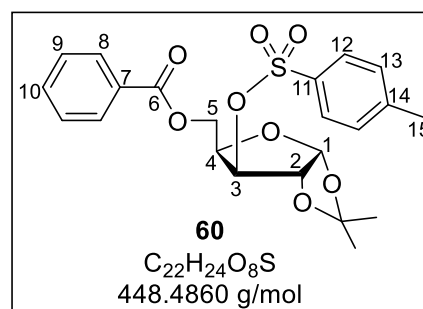
9, C-12), 112.8 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 105.0 (C-1), 83.4 (C-2), 81.6 (C-3), 76.6 (C-4), 61.1 (C-5), 26.7,

26.3 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 21.7 (C-15); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2990, 2944, 2925, 1720, 1680, 1597, 1494,

1468, 1452, 1381, 1368, 1316, 1307, 1270, 1213, 1189, 1177, 1161, 1115, 1086, 1067,

1047, 1025, 1006, 956, 897, 879, 869, 843, 813, 805, 706, 678, 663, 629, 592, 564, 550,

509, 463, 429; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 471.1084 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 471.1092 [M+Na]<sup>+</sup>.


**Darstellung von 1,2-Di-O-acetyl-3-O-tosyl-5-O-benzoyl-D-xylofuranose (57)**

Es wurden 0.42 g 1,2-O-Isopropyliden-3-O-tosyl-5-O-benzoyl-D-xylofuranose **60**

(0.94 mmol, 1.0 Äquiv.) in 3 mL Essigsäure gelöst und 0.47 mL Essigsäureanhydrid

(0.51 mg, 5.0 mmol, 5.3 Äquiv.) zugegeben. Unter Eiskühlung (0 °C) wurden über 10 min

0.20 mL Schwefelsäure langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde 29 h bei

Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde demin. Wasser bei 0 °C zugegeben und der

Ansatz weitere 15 min gerührt. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan

extrahiert und die vereinten organischen Phasen im Anschluss einmal mit gesättigte

Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über

Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das

Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v → PE/EE 2:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.37 g (0.74 mmol, 79 %) eines farb-

losen amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.22;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

8.03-8.00 (m, 4H, H-8,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.83-7.80 (m, 2H, H-12,  $\beta$ ), 7.80-7.77 (m, 2H, H-12,  $\alpha$ ), 7.59-7.55 (m,

2H, H-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.46-7.41 (m, 4H, H-9,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.32-7.29 (m, 4H, H-13,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 6.40 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.6$  Hz, 1H,

H-1,  $\alpha$ ), 6.09 (s, 1H, H-1,  $\beta$ ), 5.41-5.38 (m, 1H, H-

2,  $\alpha$ ), 5.34 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6$  Hz, 1H, H-3,  $\alpha$ ), 5.29 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 1H, H-2,  $\beta$ ),

5.10 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 1H, H-3,  $\beta$ ), 4.73-4.67 (m, 2H, H-4,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.53-4.49

(m, 3H, H-5, H-5',  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.46-4.42 (m, 1H, H-5,  $\alpha$ ), 2.41 (s, 3H, H-15,  $\alpha$ ), 2.40 (s, 3H, H-15,

$\beta$ ), 2.07-2.06 (m, 6H,  $\text{C(O)CH}_3$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ,  $\beta$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ,  $\alpha$ );

**$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 169.3, 169.2, 169.2, 168.9 ( $\text{C(O)CH}_3$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 166.1,

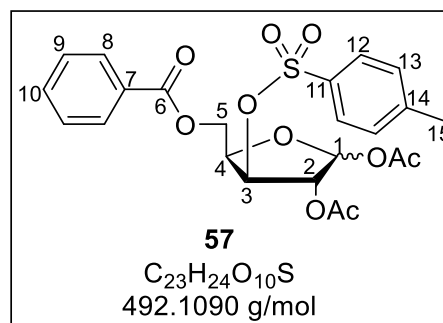
166.0 (C-6,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 145.8, 145.7 (C-14,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 133.4 (C-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 132.9, 132.9 (C-11,  $\alpha$ ,  $\beta$ ),

130.2, 130.1, 129.9, 129.9 (C-8, C-13,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 129.6, 129.6 (C-7,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 128.6, 128.5 (C-9,  $\alpha$ ,

$\beta$ ), 128.1, 128.1 (C-12,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 98.7 (C-1,  $\beta$ ), 92.9 (C-1,  $\alpha$ ), 79.6, 79.5, 79.5, 79.1 (C-2,  $\beta$ , C-

3,  $\alpha$ ,  $\beta$ , C-4,  $\beta$ ), 75.6, 75.4 (C-2, C-3,  $\alpha$ ), 62.3, 62.0 (C-5,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 21.8, 21.8 (C-15,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 21.1,

21.0, 20.6, 20.3 ( $\text{C(CH}_3)_2$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ).

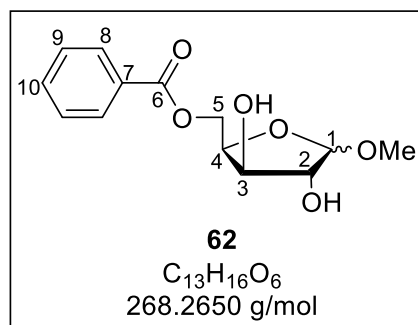


### Darstellung von 1-O-Methyl-5-O-benzoyl-D-xylofuranose (62)

Es wurden 2.8 g 1,2-O-Isopropyliden-5-O-benzoyl-D-xylose **61** (9.7 mmol, 1.0 Äquiv.) in 60 mL Methanol gelöst und 0.60 g Iod (2.4 mmol, 0.2 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktion wurde für 4 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen einmal mit Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 1:1 v/v).

**Ausbeute:** 2.2 g (8.3 mmol, 86 %) eines farblosen

Öls. **DC:**  $R_f$ -Wert (PE/EE 1:1 v/v): 0.38;  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.01-7.95 (m, 4H, H-8,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.69-7.64 (m, 2H, H-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.57-7.51 (m, 4H, H-9,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 5.40 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.4$  Hz, 1H, OH-2,  $\beta$ ), 5.37 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz, 1H, OH-3,  $\alpha$ ), 5.15 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.1$  Hz, 1H, OH-3,  $\beta$ ), 4.91 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 1H, OH-2,  $\alpha$ ), 4.80 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, 1H, H-1,  $\alpha$ ), 4.68 (d,  $^3J_{\text{HH}} =$

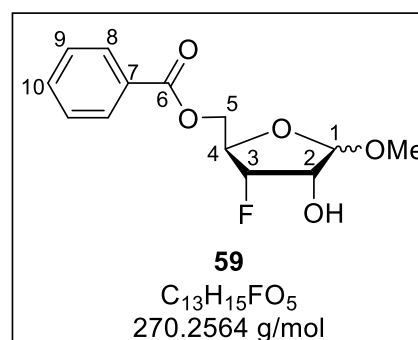


1.0 Hz, 1H, H-1,  $\beta$ ), 4.49-4.39 (m, 3H, H-4,  $\beta$ , H-5,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.36-4.26 (m, 3H, H-4,  $\alpha$ , H-5',  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.13 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 5.7$  Hz, 1H, H-3,  $\alpha$ ), 4.08-4.04 (m, 1H, H-3,  $\beta$ ), 3.92-3.87 (m, 2H, H-2,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.08-4.04 (m, 1H, H-3,  $\beta$ ), 3.29-3.87 (m, 2H, H-2,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 3.31 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ,  $\alpha$  oder  $\beta$ ), 3.24 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ,  $\alpha$  oder  $\beta$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (126 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 165.7, 165.7 (C-6), 133.3, 133.3 (C-10), 129.8, 129.8 (C-7), 129.2, 129.1 (C-8), 128.7, 128.7 (C-9), 109.6 (C-1,  $\beta$ ), 102.3 (C-1,  $\alpha$ ), 80.8 (C-2,  $\beta$ ), 79.1 (C-4,  $\beta$ ), 77.1 (C-2,  $\alpha$ ), 75.8 (C-3,  $\beta$ ), 75.6 (C-4,  $\alpha$ ), 74.6 (C-3,  $\alpha$ ), 65.0, 64.3 (C-5,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 55.0 ( $\text{OCH}_3$ ,  $\alpha$ ), 54.6 ( $\text{OCH}_3$ ,  $\beta$ ); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3436, 3064, 2936, 2836, 1715, 1602, 1584, 1451, 1400, 1316, 1270, 1191, 1178, 1096, 1071, 1038, 1025, 976, 883, 807, 773, 736, 708, 687, 607, 533, 432; **HRMS (ESI $^+$ , m/z):** ber.: 291.0839 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ , gef.: 291.0840 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ .

### Darstellung von 1-O-Methyl-3-desoxy-3-fluor-5-O-benzoyl-D-ribofuranose (59)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.24 g 1-O-Methyl-5-O-benzoyl-D-xylofuranose **62** (0.90 mmol, 1.0 Äquiv.) in 6.0 mL abs. Dichlormethan gelöst. Bei  $-78$  °C wurden 0.18 mL DAST (0.22 g, 1.4 mmol, 1.5 Äquiv.) langsam zur Reaktionslösung getropft. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, wobei sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Nach Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wurde die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 4:1 v/v  $\rightarrow$  PE/EE 3:1 v/v  $\rightarrow$  EE).

**Ausbeute:** 0.11 g (0.39 mmol, 43 %) eines farblosen Öls. **DC:**  $R_f$ -Wert (PE/EE 2:1 v/v): 0.37;  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.01-7.98 (m, 2H, H-8,  $\beta$ ), 7.96-7.94 (m, 2H, H-8,  $\alpha$ ), 7.70-7.66 (m, 2H, H-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.57-7.53 (m, 4H, H-9,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 5.70 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz, 1H, OH,  $\beta$ ), 5.15-5.03 (m, 2H, OH,  $\alpha$ , H-3,  $\alpha$ ), 4.98-4.87 (m, 2H, H-1, H-3,  $\alpha$ ), 4.78-4.76 (m, 1H, H-1,



$\beta$ ), 4.49-4.30 (m, 6H, H-5, H-5', H-4,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4.10-4.02 (m, 2H, H-2,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 3.32 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>,  $\alpha$ ), 3.23 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>,  $\beta$ ); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 165.5, 165.4 (C-6,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 133.6, 133.5 (C-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 129.5 (C-7), 129.2, 129.2 (C-8,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 128.8, 128.8 (C-9,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 108.2 (C-1,  $\beta$ ), 102.5 (C-1,  $\alpha$ ), 91.8 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>CF</sub> = 187.8 Hz, C-3,  $\beta$ ), 90.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>CF</sub> = 185.1 Hz, C-3,  $\alpha$ ), 79.9 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 25.9 Hz, C-4,  $\alpha$ ), 78.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 25.9 Hz, C-4,  $\beta$ ), 73.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 16.2 Hz, C-2,  $\beta$ ), 71.6 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 11.3 Hz, C-2,  $\alpha$ ), 64.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub> = 10.6 Hz, C-5,  $\alpha$ ), 64.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub> = 6.2 Hz, C-5,  $\beta$ ), 55.0 (OCH<sub>3</sub>,  $\beta$ ), 54.9 (OCH<sub>3</sub>,  $\alpha$ ); **<sup>19</sup>F-NMR**:  $\delta$  [ppm] (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -192.73 (m), -209.03 (m); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3468, 2939, 2838, 1718, 1602, 1584, 1492, 1451, 1413, 1382, 1315, 1269, 1178, 1100, 1068, 1038, 1024, 976, 950, 868, 806, 779, 755, 709, 687, 675, 602, 559, 535, 476; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 293.0796 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 293.0794 [M+Na]<sup>+</sup>.

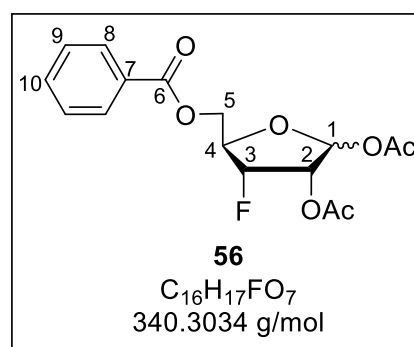
### Darstellung von 1,2-Di-O-acetyl-3-desoxy-3-fluor-5-O-benzoyl-D-ribofuranose (**56**)

Es wurden 0.37 g 1-O-Methyl-3-desoxy-3-fluor-5-O-benzoyl-D-ribofuranose **59** (1.4 mmol, 1.0 Äquiv.) in 7.0 mL Essigsäure gelöst. Anschließend wurden 0.61 mL Essigsäureanhydrid (0.66 g, 6.5 mmol, 4.7 Äquiv.) und 0.35 mL konz. Schwefelsäure (0.63 g, 6.5 mmol, 4.7 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 19 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt und eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugetropft. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.43 g (1.3 mmol, 93 %) eines farblosen

Öls. **DC:** *R<sub>F</sub>*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.45; **<sup>1</sup>H-NMR**:  $\delta$  [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.06-8.03 (m, 2H, H-8,  $\alpha$ ), 8.00-7.97 (m, 2H, H-8,  $\beta$ ), 7.72-7.67 (m, 2H, H-10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 7.59-7.53 (m, 4H, H-9,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 6.41 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 1H, H-1,  $\alpha$ ), 6.10 (s, 1H, H-1,  $\beta$ ), 5.55 (dt, <sup>2</sup>*J*<sub>HF</sub> = 52.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-3,  $\beta$ ), 5.45-5.34 (m, 2H, H-2,  $\beta$ , H-3,  $\alpha$ ), 5.22 (dt,

<sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 25.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, 1H, H-2,  $\alpha$ ), 4.77 (dtd, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 26.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, 1H, H-4,  $\alpha$ ), 4.67 (dq, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 20.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-4,  $\beta$ ), 4.60 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, 1H, H-5,  $\alpha$ ), 4.47-4.45 (m, 2H, H-5',  $\beta$ ), 4.42 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-5,  $\beta$ ), 2.15-2.11 (m, 6H, C(O)CH<sub>3</sub>,  $\alpha$  oder  $\beta$ ), 2.08 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>,  $\alpha$  oder  $\beta$ ), 1.87 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>,  $\alpha$  oder  $\beta$ ); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 169.6, 169.5, 169.3, 169.0 (C(O)CH<sub>3</sub>,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 165.3, 165.2 (C-6,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 133.6 (C-



10,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 129.3, 129.3 (C-8,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 129.2 (C-7), 128.8, 128.8 (C-9,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 98.0 (C-1,  $\beta$ ), 93.1 (C-1,  $\alpha$ ), 89.4 (d,  $^1J_{CF} = 189.8$  Hz, C-3,  $\beta$ ), 88.6 (d,  $^1J_{CF} = 186.5$  Hz, C-3,  $\alpha$ ), 81.7 (d,  $^2J_{CF} = 27.1$  Hz, C-4,  $\alpha$ ), 80.8 (d,  $^2J_{CF} = 24.8$  Hz, C-4,  $\beta$ ), 74.5 (d,  $^2J_{CF} = 13.5$  Hz, C-2,  $\beta$ ), 70.9 (d,  $^2J_{CF} = 15.8$  Hz, C-2,  $\alpha$ ), 63.6 (d,  $^3J_{CF} = 11.8$  Hz, C-5,  $\alpha$  oder  $\beta$ ), 63.1 (d,  $^3J_{CF} = 7.2$  Hz, C-5,  $\alpha$  oder  $\beta$ ), 20.9, 20.5, 20.3, 20.2 (C(O)CH<sub>3</sub>,  $\alpha$ ,  $\beta$ );  **$^{19}\text{F-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -194.32 (m), -206.90 (m); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2955, 1746, 1721, 1602, 1584, 1452, 1372, 1315, 1270, 1211, 1178, 1108, 1070, 1045, 1024, 1009, 967, 935, 897, 864, 805, 782, 736, 709, 688, 628, 601, 544, 514, 490, 446; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 363.0851 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 363.0850 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 9-(2'-O-Acetyl-3'-desoxy-3'-fluor-5'-O-benzoyl- $\beta$ -D-xylofuranosyl)-N<sup>6</sup>-benzoyladenin (**68**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.43 g N<sup>6</sup>-Benzoyladenin **69** (1.8 mmol, 1.5 Äquiv.) in 3 mL Dichlorethan suspendiert und 1.2 mL BSA (0.97 g, 4.8 mmol, 4.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde für 60 min unter Rückfluss erhitzt, wobei eine Lösung entstand. Nach dem Abkühlen wurde zu dieser Reaktionslösung eine Lösung aus 0.41 g 1,2-Di-O-acetyl-3-desoxy-3-fluor-5-O-benzoyl-D-ribose **56** (1.2 mmol, 1.0 Äquiv.) in 2 mL Dichlorethan getropft. Anschließend wurde bei 0 °C 0.86 mL TMSOTf (1.1 g, 4.8 mmol, 4.0 Äquiv.) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 5.5 h zum Rückfluss erhitzt. Nachdem die Reaktionslösung bei 0 °C mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt wurde, wurde die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 1:5 v/v).

**Ausbeute:** 0.38 g (0.73 mmol, 61 %)

eines gelblichen Feststoffs. **DC:** *R<sub>f</sub>*-Wert

(PE/EE 1:5 v/v): 0.42;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm]

(600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 11.23 (s, 1H, NH),

8.67 (s, 1H, H-8), 8.46 (s, 1H, H-2), 8.04-

8.01 (m, 4H, H-c, H-c'), 7.70-7.63 (m, 2H,

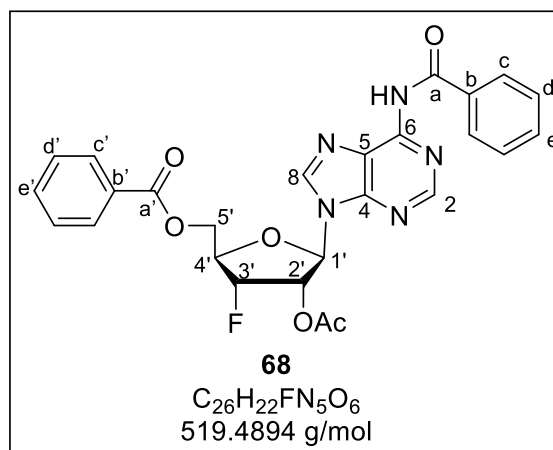
H-e, H-e'), 7.58-7.52 (m, 4H, H-d, H-d'),

6.44 (d,  $^3J_{HH} = 7.0$  Hz, 1H, H-1'), 6.31 (ddd,

$^3J_{HF} = 18.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 7.1$  Hz,  $^3J_{HH} = 4.8$  Hz,

1H, H-2'), 5.77 (ddd,  $^2J_{HF} = 53.1$  Hz,  $^3J_{HH} =$

4.9 Hz,  $^3J_{HH} = 2.3$  Hz, 1H, H-3'), 4.80-4.71 (m, 2H, H-4', H-5'), 4.63-4.59 (m, 1H, H-5'), 2.10



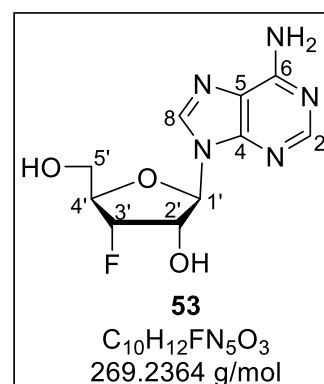
(s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 165.9 (C-a, C-a'), 152.4 (C-4), 152.2 (C-2), 151.2 (C-6), 144.3 (C-8), 134.1, 133.0 (C-e, C-e'), 129.8 (C-c, C-c'), 129.7 (C-b, C-b'), 129.3 (C-c, C-c'), 129.0, 128.9 (C-d, C-d'), 126.4 (C-5), 89.7 (d, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 187.6 Hz, C-3'), 85.3 (C-1'), 80.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 25.7 Hz, C-4'), 27.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 17.2 Hz, C-2'), 63.6 (d, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 10.3 Hz, C-5'), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>); <sup>19</sup>F-NMR: δ [ppm] (565 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): -198.93 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HF</sub> = 53.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 24.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 18.2 Hz); IR (ATR): ν̄ [cm<sup>-1</sup>]: 3064, 2943, 1747, 1718, 1639, 1602, 1582, 1509, 1485, 1451, 1371, 1314, 1267, 1217, 1177, 1092, 1068, 1025, 917, 891, 797, 708, 643, 612, 564; HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 520.1627 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 520.1625 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 3'-Desoxy-3'-fluoradenosin (53)

Es wurden 0.99 g 9-(2'-O-Acetyl-3'-desoxy-3'-fluor-5'-O-benzoyl-β-D-xylofuranosyl)-N<sup>6</sup>-benzoyladenin **69** (1.9 mmol, 1.0 Äquiv.) in 22 mL einer Lösung aus 7 N Ammoniak in Methanol suspendiert. Nachdem der Reaktionsansatz für 28 h bei 70 °C unter Druck gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v → EE/CH<sub>3</sub>OH 15:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.43 g (1.6 mmol, 84 %) eines farblosen kristallinen Feststoffs. **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (EE/ CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.31;

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, CH<sub>3</sub>OD): 8.29 (s, 1H, H-8), 8.19 (s, 1H, H-2), 6.01 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-1'), 5.14 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HF</sub> = 54.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-3'), 4.99 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 25.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-2'), 4.45 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 27.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, 1H, H-4'), 3.87 (dt, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, 1H, H-5'), 3.80 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, 1H, H-5''); <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CH<sub>3</sub>OD):



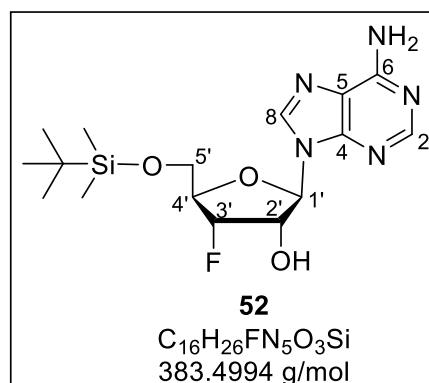
157.7 (C-6), 153.5 (C-2), 150.1 (C-4), 142.2 (C-8), 121.2 (C-5), 94.6 (d, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 185.6 Hz, C-3'), 90.4 (C-1'), 86.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 22.2 Hz, C-4'), 74.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 16.8 Hz, C-2'), 63.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 11.4 Hz, C-5'); <sup>19</sup>F-NMR: δ [ppm] (565 MHz, CH<sub>3</sub>OD): -199.98 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HF</sub> = 54.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 26.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 26.6 Hz); IR (ATR): ν̄ [cm<sup>-1</sup>]: 3301, 3162, 3062, 2920, 2363, 2218, 2194, 2181, 2160, 2030, 2022, 2005, 1978, 1968, 1941, 1894, 1844, 1830, 1734, 1717, 1684, 1653, 1637, 1604, 1579, 1558, 1541, 1521, 1507, 1489, 1473, 1457, 1447, 1437, 1425, 1374, 1335, 1293, 1227, 1124, 1078, 1030, 982, 897, 873, 795, 743, 731, 698, 668, 646, 632, 573, 564, 532, 485, 457, 438, 420, 408, 396, 389; HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 270.0997 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 270.1000 [M+H]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-5'-O-tert-butylidimethylsilyladenosenin (52)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.19 g des 3'-Desoxy-3'-fluoradenosins **53** (0.69 mmol, 1.0 Äquiv.) in 11 mL abs. Pyridin gelöst und 0.16 g TBDMSCl (1.0 mmol, 1.5 Äquiv.) zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und je einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 30:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.19 g (0.49 mmol, 71 %) eines farb-

losen Feststoffs. **DC:** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.51; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.30 (s, 1H, H-8), 8.15 (s, 1H, H-2), 7.34 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.98 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, 1H, OH-2'), 5.95 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, 1H, H-1'), 5.07 (ddd, <sup>2</sup>*J*<sub>HF</sub> = 54.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-3'), 5.01-4.92 (m, 1H, H-2'), 4.28 (dtd, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 26.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, 1H, H-4'), 3.88-3.81 (m, 2H, H-5', H-



5''), 0.88 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 156.6 (C-6), 153.3 (C-2), 150.2 (C-4), 139.8 (C-8), 119.6 (C-5), 92.9 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>CF</sub> = 183.3 Hz, C-3'), 86.3 (C-1'), 83.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 23.8 Hz, C-4'), 72.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 16.8 Hz, C-2'), 62.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub> = 11.3 Hz, C-5'), 26.3 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.5 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -5.5 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>19</sup>F-NMR:** δ [ppm] (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -198.60 (ddd, <sup>2</sup>*J*<sub>HF</sub> = 53.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 28.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 25.9 Hz); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3339, 3215, 3150, 2950, 2928, 2882, 2855, 1635, 1600, 1577, 1508, 1485, 1417, 1387, 1361, 1333, 1323, 1303, 1241, 1207, 1178, 1127, 1105, 1092, 1036, 995, 966, 897, 875, 829, 796, 785, 709, 648, 658, 631, 621, 574, 559, 545, 527, 486, 439, 399; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 384.1862 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 384.1860 [M+H]<sup>+</sup>.

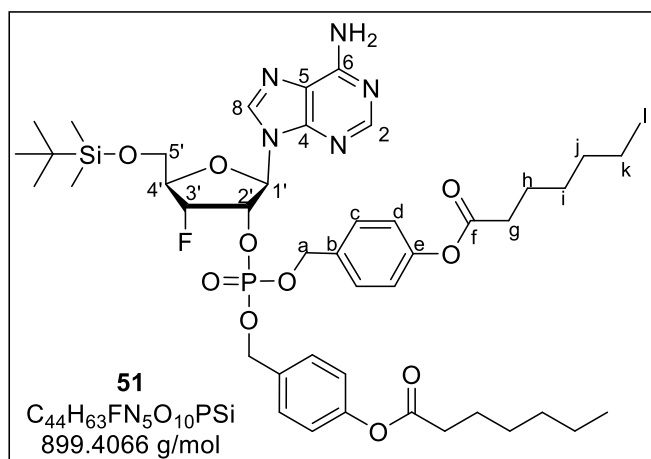
**Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(5'-O-tert-butylidimethylsilyl)-3'-desoxy-3'-fluoradenosin-2'-phosphat (51)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.35 g des 3'-Desoxy-3'-fluor-5'-O-tert-butylidimethylsilyladenosins **52** (0.90 mmol, 1.0 Äquiv.) in 17 mL abs. Dichlormethan suspendiert. Nachdem 0.70 g des *N,N*-Diisopropylamino-bis-(4-heptanoyloxy-benzyl)-phosphoramidits **152** (1.2 mmol, 1.3 Äquiv.) zugegeben wurden, wurden 0.21 g Pyridiniumtrifluoracetat

(1.1 mmol, 1.2 Äquiv.) hinzugegeben und der Reaktionsansatz für 50 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Oxidation, indem 0.27 mL *tert*-Butylhydroperoxid (5.0 M in Decan) (1.3 mmol, 1.5 Äquiv.) unter Eiskühlung zugetropft und der Reaktionsansatz für 1 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Unter vermindertem Druck wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.71 g (0.78 mmol, 87 %) eines farblosen Feststoffs.

**DC:** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v): 0.10; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.31 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.43 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.29-7.26 (m, 2H, H-c), 7.15-7.11 (m, 2H, H-c'), 7.09-7.06 (m, 2H, H-d), 7.05-7.01 (m, 2H, H-d'), 6.25 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 1H, H-1'), 5.79-5.69 (m, 1H, H-2') 5.30 (ddd, <sup>2</sup>*J*<sub>HF</sub> = 53.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, 1H, H-3'), 4.97 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.86 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.4 Hz, 1H, H-a), 4.78 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 2H, H-a), 4.42 (dtd, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 25.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, 1H, H-4'), 3.88 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.58-2.50 (m, 4H, H-g, H-g'), 1.67-1.60 (m, 4H, H-h, H-h'), 1.39-1.33 (m, 4H, H-i, H-i'), 1.32-1.26 (m, 8H, H-j, H-j', H-k, H-k'), 0.90-0.86 (m, 6H, H-l, H-l'), 0.85 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.6, 171.5 (C-f, C-f') 156.1 (C-6), 152.9 (C-2), 150.4, 150.3 (C-e, C-e'), 149.3 (C-4), 138.9 (C-8), 132.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C-b), 132.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C-b'), 129.0, 128.9 (C-c, C-c'), 121.7, 121.7 (C-d, C-d'), 118.9 (C-5), 90.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>CF</sub> = 186.9 Hz, C-3'), 84.3 (<sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 9.8 Hz, C-1'), 82.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 22.0 Hz, C-4'), 75.7 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 14.8 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 4.9 Hz, C-2'), 68.4, (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 6.0 Hz, C-a), 68.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 6.0 Hz, C-a'), 61.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub> = 10.4 Hz C-5'), 33.3 (C-g, C-g'), 30.8 (C-j, C-j'), 27.0 (C-i, C-i'), 25.6 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24.1 (C-h, C-h'), 21.8 (C-k, C-k'), 17.8 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.8 (C-l, C-l'), -5.8 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>19</sup>F-NMR:** δ [ppm] (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -198.50 (ddd, <sup>2</sup>*J*<sub>HF</sub> = 53.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 25.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HF</sub> = 20.5 Hz); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -2.1; **IR (ATR):** ν̄ [cm<sup>-1</sup>]: 3326, 3176, 2954, 2929, 2857, 1756, 1644, 1597, 1579, 1509, 1470, 1421, 1365, 1330, 1255, 1199, 1167, 1136, 1104, 1025, 1002, 920, 832, 798, 778, 714, 685, 649, 567, 500, 400; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 900.4139 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 900.4135 [M+H]<sup>+</sup>.



### Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(3'-desoxy-3'-fluor-adenosin)-2'-phosphat (78)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.74 g der TBDMS-geschützten Verbindung **51** (0.82 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst und anschließend 0.82 mL Triethylammonium-Trihydrofluorid (0.81 g, 5.0 mmol, 5.2 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem der Reaktionsansatz für 19 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde Kieselgel zum Reaktionsgemisch gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 30:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

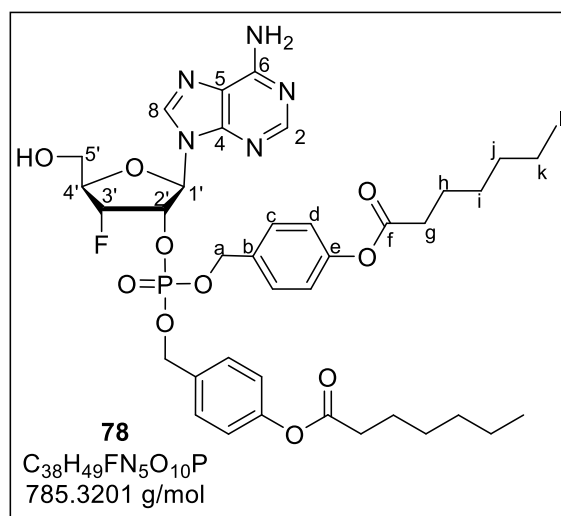
**Ausbeute:** 0.52 g (0.67 mmol, 81 %)

eines farblosen Feststoffs. **DC:** *R<sub>f</sub>*-Wert

(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v): 0.39; **<sup>1</sup>H-NMR:**

δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.41 (s, 1H, H-8), 8.15 (s, 1H, H-2), 7.50 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.29-7.25 (m, 2H, H-c), 7.15-7.11 (m, 2H, H-c'), 7.10-7.06 (m, 2H, H-d), 7.06-7.02 (m, 2H, H-d'), 6.27 (d, <sup>4</sup>J<sub>HF</sub> = 7.7 Hz, 1H, H-1'), 5.89 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 4.6 Hz, 5'-OH), 5.71 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 22.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz 1H, H-2')

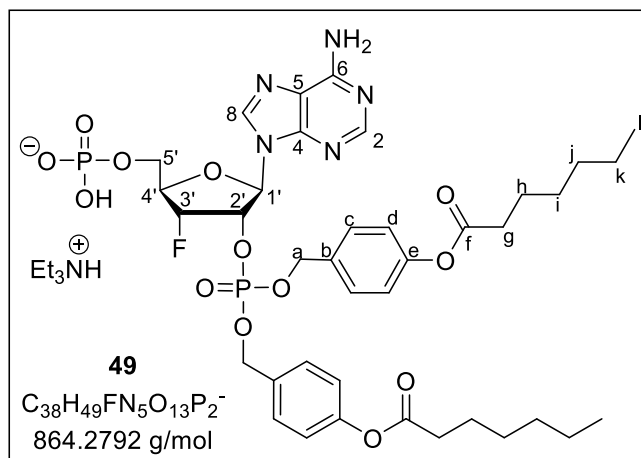
5.35 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HF</sub> = 53.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, 1H, H-3'), 4.96 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.85 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.3 Hz, 1H, H-a), 4.75 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 2H, H-a), 4.50-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.74-3.64 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.57 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.63 (p, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, 4H, H-h, H-h'), 1.40-1.19 (m, 12H, H-i, H-i', H-j, H-j', H-k, H-k'), 0.92-0.84 (m, 6H, H-l, H-l'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.8, 171.7 (C-f, C-f') 156.4 (C-6), 152.7 (C-2), 150.5 (C-e, C-e'), 149.0 (C-4), 140.1 (C-8), 132.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.0 Hz, C-b), 132.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.0 Hz, C-b'), 129.2, 129.0 (C-c, C-c'), 121.9, 121.9 (C-d, C-d'), 119.5 (C-5), 91.5 (d, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 186.2 Hz, C-3'), 85.2 (C-1'), 84.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 20.2 Hz, C-4'), 75.5 (dd, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 15.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.4 Hz, C-2'), 68.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.3 Hz, C-a), 68.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.5 Hz, C-a'), 62.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 10.9 Hz C-5'), 33.4 (C-g, C-g'), 30.9 (C-j, C-j'), 28.0 (C-i, C-i'), 24.2 (C-h, C-h'), 22.0 (C-k, C-k'), 14.0 (C-l, C-l'); **<sup>19</sup>F-NMR:** δ [ppm] (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -197.10 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HF</sub> = 53.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 29.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 23.0 Hz); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 25 °C): -2.1; **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3328, 3173, 2929, 2858, 1754, 1644, 1598, 1509, 1468, 1430, 1370, 1336, 1263, 1198, 1166, 1136, 1096, 1003, 904, 867, 798, 728, 696, 633, 563, 500, 419; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 786.3274 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 786.3295 [M+H]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(3'-desoxy-3'-fluoradenosin)-2',5'-diphosphat (49)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.48 g des 2'-Monophosphats **78** (0.61 mmol, 1.0 Äquiv.) in 12 mL Trimethylphosphat gelöst. Nachdem die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt wurde, wurden 0.33 mL Phosphorylchlorid (0.56 g, 3.7 mmol, 6.0 Äquiv.) langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 4 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zu einem gekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer gegeben und im Anschluss das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.67 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 0.28 g (0.30 mmol, 49 %) eines amorphen, farblosen Feststoffs. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.59 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.38 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.30-7.26 (m, 2H, H-c), 7.15-7.12 (m, 2H, H-c'), 7.09-7.05 (m, 2H, H-d), 7.04-7.01 (m, 2H, H-d'), 6.26 (d, <sup>4</sup>J<sub>HF</sub> = 7.7 Hz, 1H, H-1'), 5.81-5.72 (m, 1H, H-2') 5.43



(ddd, <sup>2</sup>J<sub>HF</sub> = 53.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, 1H, H-3'), 4.95 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.87 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.5 Hz, 1H, H-a), 4.79-4.72 (m, 2H, H-a'), 4.42 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 26.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, 1H, H-4'), 4.04-3.92 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.98 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 5H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (dt, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.66-1.60 (m, 4H, H-h, H-h'), 1.38-1.33 (m, 4H, H-i, H-i'), 1.32-1.26 (m, 8H, H-j, H-j', H-k, H-k'), 1.16-1.11 (m, 9H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.91-0.84 (m, 6H, H-l, H-l'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.2 (C-f, C-f'), 156.6 (C-6), 153.4 (C-2), 150.9 (C-e, C-e'), 149.9 (C-4), 139.9 (C-8), 129.7, 129.6 (C-c, C-c'), 129.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, C-b), 122.4, 122.3 (C-d, C-d'), 122.3 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.6 Hz, C-b'), 119.0 (C-5), 91.5 (d, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 188.4 Hz, C-3'), 84.6 (C-1'), 82.2 (C-4'), 76.3 (C-2'), 69.1 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 4.8 Hz, C-a), 68.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.2 Hz, C-a'), 63.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 11.2 Hz C-5'), 45.7 (C-A), 33.9 (C-g, C-g'), 31.3 (C-j, C-j'), 28.5 (C-i, C-i'), 24.7 (C-h, C-h'), 22.4 (C-k, C-k'), 14.3 (C-l, C-l'), 8.92 (C-B); **<sup>19</sup>F-NMR:** δ [ppm] (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -196.92- -196.68 (m); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -2.3 (P-2'), -0.4 (P-5'); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2930, 2858, 1755, 1652, 1599, 1576, 1508, 1468, 1420, 1374, 1248, 1198, 1166, 1138, 1101, 1004, 917, 812, 799, 720, 684, 634, 562, 497, 396; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 866.2937 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 866.2950 [M+H]<sup>+</sup>.

## 7.2.2 Synthese der unterschiedlichen 3'-OMe-Adenosinmonophosphate

### Darstellung von 2',-5'-Bis-O-(tert-butyldimethylsilyl)adenosin (**104**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.0 g Adenosin **102** (3.8 mmol, 1.0 Äquiv.) und 1.7 g TBDMSCI (11 mmol, 3.0 Äquiv.) in 8.0 mL abs. Pyridin gelöst und bei Raumtemperatur für 114 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in einem 1:1 (v/v) Gemisch aus Salzsäure (1 M) und Methanol aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen jeweils einmal mit gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigte Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinten wässrigen Phasen wurden einmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  40:1 v/v  $\rightarrow$   $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  10:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.63 g (1.3 mmol, 33 %) eines farblosen

Feststoffs. **DC:**  $R_f$ -Wert ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  10:1 v/v):

0.60.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.35

(s, 1H, H-2), 8.21 (s, 1H, H-8), 7.67 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ),

5.96 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.61 (t,  $^3J_{\text{HH}} =$

5.0 Hz, 1H, H-2'), 4.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz, 1H, H-3'),

4.02 (m, 1H, H-4'), 3.93 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.5$  Hz,

$^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, 1H, H-5<sub>a</sub>'), 3.79 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.5$  Hz,

$^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, 1H, H-5<sub>b</sub>'), 0.90 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ),

0.75 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.08 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.08

(s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), -0.05 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), -0.15 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,

$\text{DMSO-}d_6$ ): 160.3 (C-a), 159.7 (C-a), 159.6 (C-a), 150.5 (C-2) 146.5, 138.1 (C-8) 87.7, 87.5

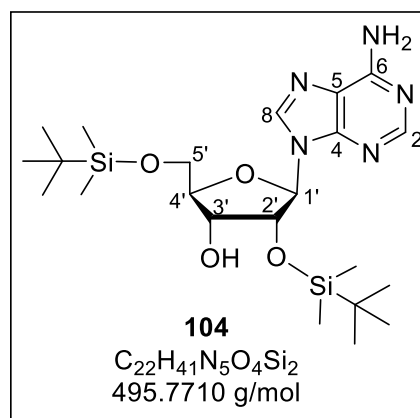
(C-1'), 84.9 (C-4'), 76.1 (C-2'), 69.9 (C-3'), 62.8 (C-5'), 25.8, 25.5 (C-c); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]:

3323, 3130, 2952, 2928, 2897, 2857, 1636, 1595, 1575, 1471, 1418, 1390, 1362, 1327,

1300, 1251, 1204, 1137, 1102, 1036, 999, 945, 902, 878, 831, 797, 776, 711, 684, 671, 636,

619, 576, 532, 509, 481, 396; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 496.2770 [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup>, gef.:

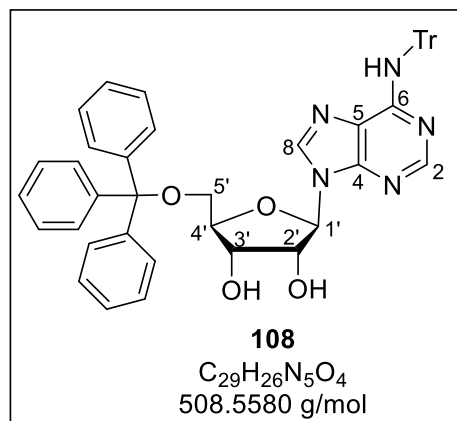
496.2805 [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup>.



**Darstellung von *N*<sup>6</sup>-5'-*O*-(Bistrityl)-adenosin (**108**)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.5 g Adenosin **102** (5.6 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Pyridin suspendiert. Anschließend wurden 4.7 g Tritylchlorid (17 mmol, 3.0 Äquiv.) zugegeben und bei 60 °C für 20 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und die vereinten wässrigen Phasen dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Aceton 9:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Aceton 8.5:1.5 v/v) → (PE/EE 1:2 v/v, 3 % Et<sub>3</sub>N → EE → EE/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v).

**Ausbeute:** 2.4 g (3.1 mmol, 56 %) eines farblosen Feststoffs. **DC:** *R*<sub>F</sub>-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 8.5:1.5 v/v): 0.35. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.35 (s, 1H, H-8), 7.83 (s, 1H, H-2), 7.45 (s, 1H, NH), 7.35-7.20 (m, 30H, Tr-ArH), 5.91 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, 1H, H-1'), 5.52 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, 1H, OH-2'), 5.20 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, 1H, OH-3'), 4.73-4.71 (m, 1H, H-2'), 4.32-4.27 (m, 1H, H-3'), 4.08-4.04 (m, 1H, H-4'), 3.22-3.19 (m, 1H, H-5', H-5'');



**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 153.9 (C-6), 151.5 (C-2), 148.8 (C-4), 145.3 (*N*Tr-ArC<sub>q</sub>), 143.9 (*O*Tr-ArC<sub>q</sub>), 141.0 (C-8), 129.0, 128.6, 128.2, 128.1, 127.4, 127.0 (Tr-ArC<sub>H</sub>), 121.4 (C-5), 88.6 (C-1'), 86.3 (*O*Tr-C<sub>q</sub>), 83.4 (C-4'), 73.0 (C-2'), 70.7 (*N*Tr-C<sub>q</sub>), 70.6 (C-3'), 64.2 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3270, 3056, 2940, 1603, 1580, 1489, 1470, 1446, 1406, 1374, 1345, 1285, 1258, 1219, 1187, 1152, 1124, 1090, 1067, 1042, 1032, 1012, 999, 902, 866, 850, 795, 768, 749, 717, 697, 649, 631, 616, 564, 548, 537, 505, 475, 460, 406; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 752.3231 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 752.3223 [M+H]<sup>+</sup>.

**Darstellung von *N*<sup>6</sup>-5'-*O*-(Bistrityl)-2'-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-adenosin (**109**)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.75 g der tritylgeschützten Verbindung **108** (1.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 4.0 mL abs. THF gelöst. Es wurde 0.28 mL Triethylamin (0.20 g, 2.0 mmol, 2.0 Äquiv.) zugetropft und der Reaktionsansatz für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 0.18 g TBDMSCl (1.2 mmol, 1.2 Äquiv.) und 0.19 g AgNO<sub>3</sub> (1.1 mmol, 1.1 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktion wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Essigsäureethylester zugegeben und das Reaktionsgemisch im Anschluss über

Celite filtriert, um die Silbersalze zu entfernen. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und die vereinten wässrigen Phasen zweimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 5:1 v/v → PE/EE 4:1 v/v → PE/EE 2:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.28 g (0.33 mmol, 33 %) eines farb-

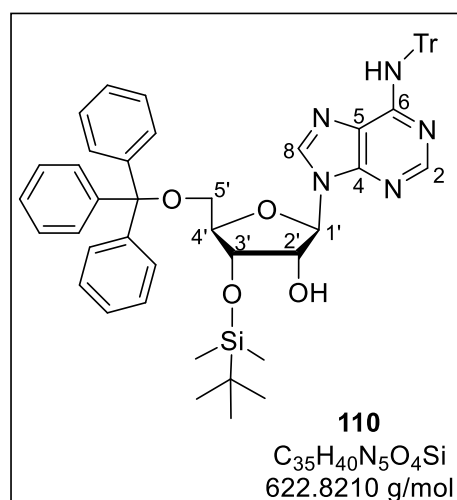
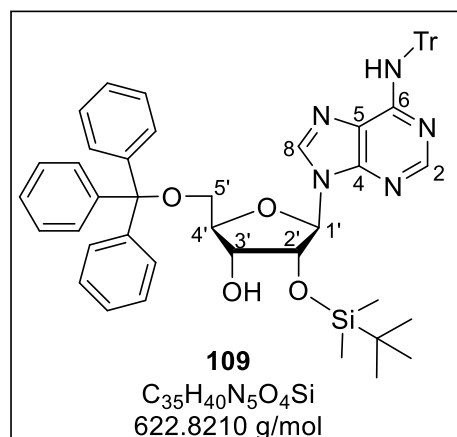
losen amorphen Feststoffs. **DC:**  $R_f$ -Wert (PE/EE 4:1 v/v): 0.58.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.36 (s, 1H, H-8), 7.81 (s, 1H, H-2), 7.41 (s, 1H, NH), 7.38-7.19 (m, 30H, Tr-ArH), 5.94 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.6$  Hz, 1H, H-1'), 5.12 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.1$  Hz, 1H, OH-3'), 4.83 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz, 1H, H-2'), 4.32-4.26 (m, 1H, H-3'), 4.11-4.06 (m, 1H, H-4'), 3.26-3.23 (m, 2H, H-5', H-5'') 0.73 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), -0.14 (s, 3H,

Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 154.0 (C-6), 151.3 (C-2), 148.5 (C-4), 145.1 (NTr-ArC<sub>q</sub>), 143.8 (OTr-ArC<sub>q</sub>), 141.9 (C-8), 129.1, 128.7, 128.3, 128.2, 127.5, 127.1 (Tr-ArC<sub>H</sub>), 121.4 (C-5), 88.7 (C-1'), 86.5 (OTr-C<sub>q</sub>), 83.6 (C-4'), 75.3 (C-2'), 70.9 (NTr-C<sub>q</sub>), 70.5 (C-3'), 64.0 (C-5'), 25.7 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.3 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -4.3, -4.9 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3299, 3056, 3029, 2927, 2856, 1736, 1601, 1490, 1469, 1447, 1406, 1370, 1329, 1288, 1221, 1186, 1124, 1065, 1043, 1033, 1000, 901, 864, 836, 778, 766, 746, 696, 647, 631, 564, 546, 494; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 866.4096 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 866.4099 [M+H]<sup>+</sup>.

Es konnte zusätzlich das 3'-silylierte Nebenprodukt **110** isoliert werden.

**Ausbeute:** 0.26 g (0.31 mmol, 31 %) eines farblosen amorphen Feststoffs. **DC:**  $R_f$ -Wert (PE/EE 4:1 v/v): 0.33.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.40 (s, 1H, H-8), 7.80 (s, 1H, H-2), 7.43 (s, 1H, NH), 7.34-7.19 (m, 30H, Tr-ArH), 5.88 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, 1H, H-1'), 5.37 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.1$  Hz, 1H, OH-2'), 4.86-4.80 (m, 1H, H-2'), 4.48-4.43 (m, 1H, H-3'), 4.04-4.00 (m, 1H, H-4'), 3.37-3.32 (m, 1H, H-5'), 3.15-3.09 (m, 1H, H-5''), 0.82 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.00 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 154.1 (C-6), 151.1

(C-2), 148.8 (C-4), 145.3 (NTr-ArC<sub>q</sub>), 143.9 (OTr-ArC<sub>q</sub>), 141.6 (C-8), 129.1, 128.7, 128.3,



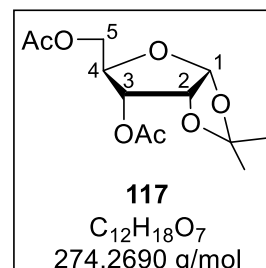
128.2, 127.5, 127.1 (Tr-ArC<sub>H</sub>), 121.5 (C-5), 88.8 (C-1'), 86.6 (OTr-C<sub>q</sub>), 83.9 (C-4'), 72.7 (C-3'), 72.3 (C-2'), 70.7 (NTr-C<sub>q</sub>), 63.6 (C-5'), 26.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -4.0, -4.6 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 866.4096 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 866.4085 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-3,5-O-acetyl-D-ribofuranose (**117**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.60 g 2,3,5-Tetra-O-acetylribofuranose **112** (2.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 6.5 mL abs. Aceton gelöst. Es wurden 0.02 g Iod (0.06 mmol, 0.03 Äquiv.) bei 0 °C zur Reaktionslösung gegeben. Nachdem die Reaktionslösung für 22 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde eine gesättigte Natriumthiosulfat-Lösung zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde mit dest. Wasser verdünnt und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend wurden die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 2:1 v/v → PE/EE 1:2 v/v).

**Ausbeute:** 0.40 g (1.5 mmol, 73 %) eines gelben Öls. **DC** R<sub>F</sub>-Wert

(PE/EE 2:1 v/v): 0.47; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.83 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.82 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-2), 4.68 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 1H, H-3), 4.36 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.6 Hz, 1H, H-5), 4.36-4.28 (m, 1H, H-4), 4.14 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, 1H, H-5'), 2.14 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2.09 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.56 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.34 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.7 (C=OCH<sub>3</sub>), 170.2 (C=OCH<sub>3</sub>), 113.2 (CCH<sub>3</sub>), 104.2 (C-1), 77.1 (C-2), 75.4 (C-4), 72.2 (C-3), 62.4 (C-5), 26.6 (CCH<sub>3</sub>), 26.5 (CCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 1739, 1372, 1214, 1168, 1118, 1077, 1015, 869; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 297.0945 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 297.0935 [M+Na]<sup>+</sup>.

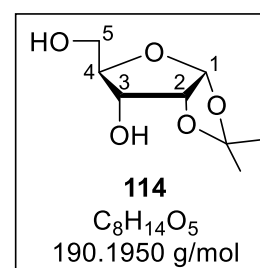


**Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-D-ribfuranose (114)**Synthese 1

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.39 g 1,2-O-Isopropyliden-3,5-O-acetyl-D-ribofuranose **117** (1.4 mmol, 1.0 Äquiv.) in 5.0 mL abs. Methanol gelöst. Es wurden 31 mg Kaliumcarbonat (0.32 mmol, 0.20 Äquiv.) zugegeben. Nachdem die Reaktion für 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.23 g (1.2 mmol, 85 %) eines farblosen Feststoffs.

**DC** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v): 0.11; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 5.65 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, 1H, H-1), 4.98 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.7 Hz, 1H, OH-3), 4.64 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, 1H, OH-5), 4.43 (t, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, 1H, H-2), 3.73-3.60 (m, 3H, H-3, H-4, H-5), 3.41-3.35 (m, 1H, H-5'), 1.43 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.26 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 111.5 (C(CH<sub>3</sub>)), 103.7 (C-1), 80.7 (C-4), 79.4 (C-2), 70.8 (C-3), 60.6 (C-5), 27.0 (C(CH<sub>3</sub>)), 26.8 (C(CH<sub>3</sub>)); **IR (ATR):** ν̄ [cm<sup>-1</sup>]: 3229, 2986, 2956, 2922, 2886, 1459, 1379, 1371, 1283, 1261, 1240, 1215, 1170, 1141, 1114, 1087, 1014, 975, 909, 873, 792, 753, 698, 648, 617, 601, 558, 520, 487; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 213.0733 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 213.0772 [M+Na]<sup>+</sup>.

Synthese 2

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 7.96 g 2,3,5-Tetra-O-acetylribofuranose **112** (25.0 mmol, 1.00 Äquiv.) in 80 mL abs. Aceton gelöst. Es wurden 0.38 g Iod (1.5 mmol, 0.060 Äquiv.) bei 0 °C zur Reaktionslösung gegeben. Nachdem die Reaktionslösung für 2 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde eine gesättigte Natriumthiosulfatlösung zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde mit dest. Wasser verdünnt und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend wurden die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 53 mL abs. Methanol gelöst. Es wurden 0.55 g Kaliumcarbonat (4.0 mmol, 0.16 Äquiv.) zugegeben. Nachdem die Reaktion für 3 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

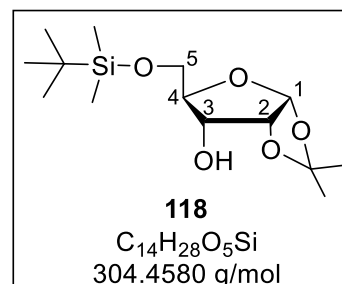
**Ausbeute:** 3.27 g (17.2 mmol, 69 %) eines orangenen Feststoffs. Die analytischen Daten entsprechen den unter der Synthese 1 angegebenen Werten.

**Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-5-tert-butylidimethylsilyl-D-ribofuranose (118)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.19 g 1,2-O-Isopropyliden-D-ribofuranose **114** (1.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. Pyridin gelöst. Es wurden 0.18 g *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) (1.2 mmol, 1.2 Äquiv.) zur Reaktionslösung gegeben. Nachdem die Reaktionslösung für 5.5 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend wurden die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.27 g (0.90 mmol, 90 %) eines leicht gelben

Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.31; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (600 MHz, DMSO- $d_6$ ): 5.63 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, 1H, H-1), 5.03 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, 1H, OH), 4.44 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.0$  Hz, 1H, H-2), 3.82 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1H, H-5), 3.73 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz 1H, H-4), 3.69 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.4$  Hz 1H, H-3),



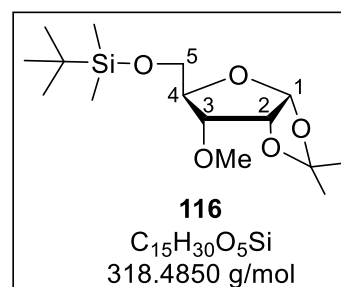
1.43 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.26 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.86 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.03 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (150 MHz, DMSO- $d_6$ ): 111.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 103.8 (C-1), 80.4 (C-4), 79.4 (C-2), 70.7 (C-3), 62.5 (C-5), 27.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 26.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 26.3 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.5 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -4.7 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), -4.8 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3481, 2954, 2930, 2885, 2857, 1472, 1462, 1383, 1374, 1316, 1252, 1216, 1166, 1151, 1119, 1074, 1016, 933, 872, 830, 814, 776, 704, 666, 605, 561, 519; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>,  $m/z$ ): ber.: 327.1598 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 327.1581 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-3-methoxy-5-tert-butylidimethylsilyl-D-ribofuranose (116)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 4.67 g 1,2-O-Isopropyliden-5-tert-butylidimethylsilyl-D-ribofuranose **118** (15.3 mmol, 1.00 Äquiv.) in 150 mL abs. DMF gelöst. Bei 0 °C wurden 1.10 g Natriumhydrid (46.0 mmol, 3.00 Äquiv.) zugegeben. Nachdem das Reaktionsgemisch für 0.5 h bei 0 °C gerührt wurde, wurden 1.2 mL Methyljodid (2.6 g, 18 mmol, 1.2 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 4.5 h bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Zum Rückstand wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend wurden die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter

vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 50:1 v/v → PE/EE 20:1 v/v → PE/EE 10:1 v/v).

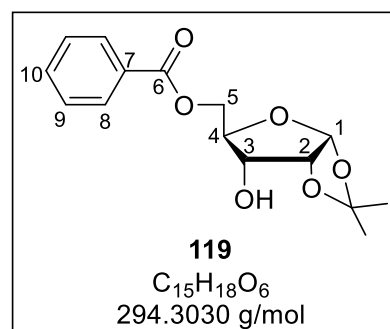
**Ausbeute:** 4.53 g (14.2 mmol, 93 %) eines farblosen amorphen Feststoffes. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 10:1 v/v): 0.30;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 5.74 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 4.66 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.0$  Hz, 1H, H-2), 4.00 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.0$  Hz, 1H, H-4), 3.93 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.0$  Hz, 1H, H-5), 3.75-3.71 (m, 2H, H-3, H-5'), 3.69 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.57 (s, 3H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.36 (s, 3H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.89 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.07 (s, 3H,  $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 0.06 (s, 3H,  $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 112.8 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ), 103.9 (C-1), 79.3 (C-3, C-4), 79.2 (C-3, C-4), 77.3 (C-2), 61.1 (C-5), 58.4 ( $\text{OCH}_3$ ), 26.8 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 26.5 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 25.9 ( $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 18.4 ( $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), -5.2 ( $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), -5.4 ( $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2987, 2953, 2930, 2857, 1462, 1381, 1372, 1314, 1252, 1232, 1217, 1154, 1139, 1122, 1101, 1022, 1004, 971, 935, 872, 830, 813, 776, 707, 667, 606, 562, 512; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 341.1755 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>, gef.: 341.1740 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.



### Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-5-O-benzoyl-D-ribofuranose (119)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.38 g 1,2-O-Isopropyliden-D-ribofuranose **114** (2.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 7.0 mL abs. Dichlormethan gelöst. Nachdem bei 0 °C 0.30 mL Triethylamin (0.22 g, 2.2 mmol, 1.1 Äquiv.) zur Reaktionslösung gegeben wurden, wurden 0.25 mL Benzoylchlorid (0.31 g, 2.2 mmol, 1.1 Äquiv.) langsam über eine Minute zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 50 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung beendet. Die wässrige Phase wurde einmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.49 g (1.7 mmol, 83 %) eines farblosen amorphen Feststoffes. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.25;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.00-7.94 (m, 2H, H-8), 7.71-7.65 (m, 1H, H-10), 7.60-7.51 (m, 2H, H-9), 5.72 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, 1H, H-1), 5.32 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, 1H, OH-3), 4.57 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, 1H, H-5), 4.30 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz, 1H, H-5'), 4.52 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, 1H, H-2), 4.27 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6$  Hz, 1H, H-5'), 4.07-4.01 (m, 1H, H-4), 3.87 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} =$



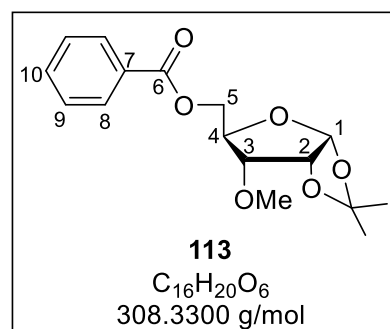
9.3 Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, 1H, H-3), 1.46 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.28 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 165.5 (C-6), 133.4 (C-10), 129.5 (C-7), 129.2 (C-8), 128.8 (C-9), 111.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 103.4 (C-1), 78.9 (C-2), 76.9 (C-4), 71.2 (C-3), 63.6 (C-5), 26.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 26.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3435, 2987, 2936, 1718, 1661, 1602, 1452, 1383, 1375, 1338, 1315, 1271, 1214, 1164, 1097, 1068, 1007, 889, 858, 823, 807, 778, 710, 687, 679, 664, 635, 585, 512; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 317.0996 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 317.0994 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 1,2-O-Isopropyliden-3-methoxy-5-O-benzoyl-D-ribofuranose (113)

#### Synthese 1

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 4.5 g 1,2-O-Isopropyliden-3-methoxy-5-*tert*-butyldimethylsilyl-D-ribofuranose **116** (14 mmol, 1.0 Äquiv.) in 95 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst. Es wurden bei 0 °C 17 mL Tetrabutylammoniumfluorid (4.4 g, 17 mmol, 1.2 Äquiv.) zur Reaktionslösung gegeben. Nachdem die Reaktionslösung für 5.0 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde eine auf 0 °C gekühlte, gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben. Die organische Phase wurde jeweils einmal mit Wasser und einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Anschließend wurde die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 140 mL abs. Dichlormethan aufgenommen. Es wurden 3.93 mL Triethylamin (2.87 g, 28.3 mmol, 2.0 Äquiv.) und 1.97 mL Benzoylchlorid (2.39 g, 17.0 mmol, 1.2 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde dest. Wasser zur Reaktionslösung gegeben und die organische Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Nachdem die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt wurde, wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 5:1 v/v → PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 4.20 g (13.6 mmol, 96 %) eines gelben, amorphen Feststoffes. **DC** *R<sub>f</sub>*-Wert (PE/EE 3:1 v/v): 0.38; **<sup>1</sup>H-NMR**:  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.03-7.97 (m, 2H, H-8), 7.72-7.65 (m, 1H, H-10), 7.58-7.53 (m, 2H, H-9), 5.78 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, 1H, H-1), 4.78 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.0$  Hz, 1H, H-2), 4.56 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, 1H, H-5), 4.30 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz, 1H, H-5'), 4.11 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} =$



5.4 Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.6$  Hz, 1H, H-4), 3.70 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, 1H, H-3), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.46 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.30 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (125 MHz,

DMSO-*d*<sub>6</sub>): 165.2 (C-6), 139.9 (C-10), 129.8 (C-7), 129.6 (C-8), 129.2 (C-9), 112.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 104.3 (C-1), 80.2 (C-3), 76.6 (C-2), 76.2 (C-4), 63.8 (C-5), 57.6 (OCH<sub>3</sub>), 27.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 26.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2987, 2937, 2834, 1718, 1602, 1584, 1452, 1374, 1335, 1314, 1270, 1235, 1215, 1167, 1092, 1070, 1017, 989, 872, 805, 709, 688, 672, 644, 618, 547, 510; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 331.1152 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 331.1176 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Synthese 2

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.26 g 1,2-*O*-Isopropyliden-5-*O*-benzoyl-D-ribofuranose **119** (0.90 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. DMF gelöst. Bei 0 °C wurden 66 mg Natriumhydrid (2.7 mmol, 3.0 Äquiv.) zugegeben. Nachdem das Reaktionsgemisch für 0.5 h bei 0 °C gerührt wurde, wurden 0.07 mL Methyljodid (0.2 g, 1 mmol, 1.2 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 3 h bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden zweimal mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 6:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.18 g (0.59 mmol, 65 %) eines gelben amorphen Feststoffes. Die analytischen Daten entsprechen den unter der Synthese 1 angegebenen Werten.

**Darstellung von 1,2-O-Acetyl-3-methoxy-5-O-benzoyl-D-ribofuranose (120)**

Es wurden 243 mg 1,2-O-Isopropyliden-3-methoxy-5-O-benzoyl-D-ribofuranose **113** (0.787 mmol, 1.0 Äquiv.) in 5.0 mL Essigsäure gelöst. Nachdem 0.39 mL Essigsäureanhydrid (0.43 g, 4.2 mmol, 5.3 Äquiv.) zugegeben wurden, wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt. Im Anschluss wurden 0.16 mL Schwefelsäure (0.29 g, 2.9 mmol, 3.7 Äquiv.) langsam bei 0 °C zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 25 h bei Raumtemperatur gerührt. Unter Kühlung wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zur Reaktionslösung gegeben, diese für 15 min gerührt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Nachdem die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt wurde, wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 2:1 v/v).

**Ausbeute:** 259 mg (0.736 mmol, 94 %) eines farb-

losen Öls als Gemisch beider Anomere. **DC**  $R_f$ -Wert

(PE/EE 2:1 v/v): 0.50 und 0.21; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm]

(400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.04-7.97 (m, 4H, H-8,  $\alpha$  und  $\beta$ ),

7.71-7.66 (m, 2H, H-10,  $\alpha$  und  $\beta$ ), 7.58-7.52 (m,

4H, H-9,  $\alpha$  und  $\beta$ ), 6.30 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz, 1H, H-1,

$\alpha$ ), 5.99 (s, 1H, H-1,  $\beta$ ), 5.29 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, 1H,

H-2,  $\beta$ ), 5.27-5.21 (m, 1H, H-2,  $\alpha$ ), 4.61 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.0$  Hz, 1H, H-5,  $\beta$ ),

4.50-4.35 (m, 3H, H-5, H-4, H-5',  $\alpha$ ), 4.32 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, 1H, H-5',  $\beta$ ),

4.23 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.9$  Hz, 1H, H-4,  $\beta$ ), 4.17 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz,

$^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, 1H, H-3,  $\beta$ ), 4.05-4.02 (m, 1H, H-3,  $\alpha$ ), 3.34-3.32 (m, 6H, OCH<sub>3</sub>,  $\alpha$  und  $\beta$ ),

2.11 (s, 3H, H-b',  $\beta$ ), 2.09 (s, 3H, H-b',  $\alpha$ ), 2.05 (s, 3H, H-b,  $\alpha$ ), 1.84 (s, 3H, H-b,  $\beta$ ); **<sup>13</sup>C-NMR:**

$\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 169.9 (C-a',  $\alpha$  und  $\beta$ ), 169.2 (C-a,  $\alpha$  und  $\beta$ ), 165.8 (C-6,  $\alpha$

und  $\beta$ ), 134.0 (C-10,  $\alpha$  und  $\beta$ ), 129.8 (C-7,  $\alpha$  und  $\beta$ ), 129.8 (C-8,  $\beta$ ), 129.7 (C-8,  $\alpha$ ), 129.3

(C-9,  $\alpha$ ), 129.3 (C-9,  $\beta$ ), 98.6 (C-1,  $\beta$ ), 94.4 (C-1,  $\alpha$ ), 81.1 (C-4,  $\alpha$ ), 79.9 (C-4,  $\beta$ ), 78.4 (C-3,

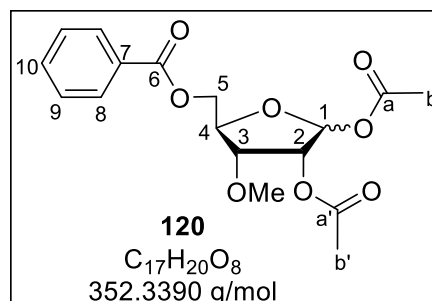
$\beta$ ), 77.8 (C-3,  $\alpha$ ), 73.2 (C-2,  $\beta$ ), 71.1 (C-2,  $\alpha$ ), 64.7 (C-5,  $\alpha$ ), 63.9 (C-5,  $\beta$ ), 58.9 (OCH<sub>3</sub>,  $\beta$ ),

58.7 (OCH<sub>3</sub>,  $\alpha$ ), 21.1, 21.0 (C-b, C-b',  $\alpha$  und  $\beta$ ); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3004, 2930, 2829, 1740,

1718, 1600, 1584, 1446, 1368, 1316, 1272, 1240, 1216, 1180, 1149, 1131, 1097, 1072,

1031, 1021, 995, 958, 945, 900, 876, 861, 811, 776, 713, 671, 652, 632, 617, 599, 556,

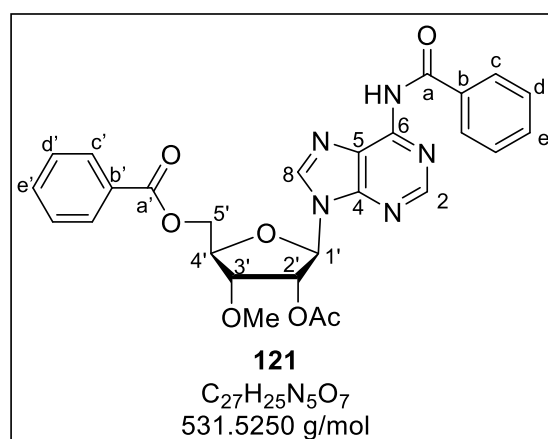
541, 458, 445; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 375.1050.1152 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 375.1049 [M+Na]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 9-(2'-O-Acetyl-3'-methoxy-5'-O-benzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-N<sup>6</sup>-benzoyladenosenin (121)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.73 g N<sup>6</sup>-Benzoyladenin **69** (7.20 mmol, 1.5 Äquiv.) in 12.5 mL abs. Dichlorethan suspendiert und 4.72 mL N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamid (3.92 g, 19.3 mmol, 4.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Suspension wurde für 1 h zum Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus 1.70 g 1,2-O-Acetyl-3-O-methyl-5-O-benzoyl-D-ribofuranose **120** (4.82 mmol, 1.0 Äquiv.) in 8.2 mL abs. Dichlorethan zur auf Raumtemperatur abgekühlten Reaktionslösung getropft. Nachdem bei 0 °C 3.5 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (4.3 g, 19 mmol, 4.0 Äquiv.) zur Reaktionslösung getropft wurden, wurde diese für 3.5 h auf 95 °C erhitzt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 100:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 60:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.39 g (2.61 mmol, 54 %) eines gelben amorphen Feststoffes. **DC** R<sub>F</sub>-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 60:1 v/v): 0.14; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 11.25 (s, 1H, NH), 8.65 (s, 1H, H-8), 8.62 (s, 1H, H-2), 8.06-8.01 (m, 2H, H-c' oder H-c), 7.96-7.91 (m, 2H, H-c oder H-c'), 7.69-7.61 (m, 2H, H-e, H-e'), 7.59-7.48 (m, 4H, H-d, H-d'), 6.33 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-1'), 6.07 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-2'), 4.67



(dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-5'), 4.61 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, 1H, H-3'), 4.53 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, 1H, H-5''), 4.44-4.38 (m, 1H, H-4'), 3.43 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 169.6 (CQCH<sub>3</sub>), 165.6, 165.4 (C-a, C-a'), 151.7, 151.7 (C-2, C-4), 150.6 (C-6), 143.7 (C-8), 133.5 (C-e oder C-e'), 133.2 (C-b'), 132.5 (C-e oder C-e'), 129.2 (C-c oder C-c'), 129.3 (C-b), 128.8 (C-d oder C-d'), 128.5 (C-c oder C-c' oder -d oder C-d'), 125.8 (C-5), 86.3 (C-1'), 79.5 (C-4'), 77.6 (C-3'), 72.8 (C-2'), 63.5 (C-5'), 58.3 (OCH<sub>3</sub>), 20.5 (COCH<sub>3</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 1718, 1607, 1560, 1451, 1269, 1228, 1092, 1068, 1026, 708, 687; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 532.1827 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 532.1837 [M+H]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 3'-Methoxyadenosin (101)**

Es wurden 1.26 g geschütztes 3'-Methoxyadenosin **121** (2.38 mmol, 1.0 Äquiv.) in 6.5 mL 7 N Ammoniak in Methanol gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 19 h in einem Druckgefäß bei 60 °C gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v).

**Ausbeute:** 613 mg (2.18 mmol, 92 %) eines leicht gelben

Feststoffs. **DC** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.14;

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.34 (s, 1H, H-8),

8.13 (s, 1H, H-2), 7.34 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.87 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.4 Hz,

1H, H-1'), 5.50 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, 1H, OH-2'), 5.46 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> =

7.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, 1H, OH-5'), 4.76 (td, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub>

= 4.9 Hz, 1H, H-2'), 4.06 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, 1H, H-4'), 3.85 (dd,

<sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, 1H, H-3'), 3.69-3.65 (m, 1H, H-

5'), 3.58-3.53 (m, 1H, H-5''), 3.42 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ

[ppm] (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 156.7 (C-6), 152.9 (C-2), 149.5 (C-4), 140.3 (C-8), 119.8 (C-5),

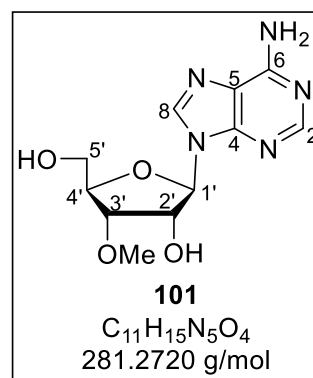
88.5 (C-1'), 83.8 (C-4'), 80.4 (C-3'), 73.2 (C-2'), 62.1 (C-5'), 58.1 (OCH<sub>3</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]:

3277, 3159, 3114, 2926, 2895, 2865, 2819, 1660, 1600, 1577, 1508, 1471, 1460, 1422,

1372, 1350, 1330, 1300, 1238, 1204, 1185, 1127, 1095, 1074, 1065, 1013, 983, 924, 910,

879, 861, 832, 799, 740, 693, 681, 631, 533, 436; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 282.1197

[M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 282.1199 [M+Na]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 3'-Methoxy-5'-O-tert-butylidimethylsilyladenosen (124)**

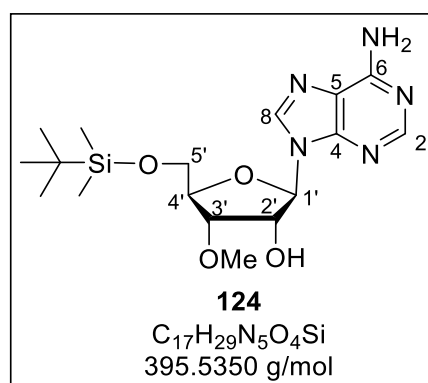
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 592 mg 3'-Methoxyadenosin **101** (2.10 mmol, 1.0 Äquiv.) in 36 mL abs. Pyridin gelöst. Im Anschluss wurden bei 0 °C 0.48 g *tert*-Butylidimethylsilylchlorid (3.2 mmol, 1.5 Äquiv.) zur Reaktionslösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 24 h gerührt, wobei sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Nach vollständigem Umsatz erfolgte die Zugabe einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Nachdem die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt wurde, wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v).

**Ausbeute:** 748 mg (1.89 mmol, 90 %) eines farblosen Feststoffs.

**DC** *R<sub>F</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.44; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

8.29 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.30 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.90 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, 1H, H-1'), 5.59 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, 1H, OH-2'), 4.72 (dt, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, 1H, H-2'), 4.05 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-4'), 3.90-3.85 (m, 2H, H-3', H-5'), 3.74 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, 1H, H-5''), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.06 (s, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

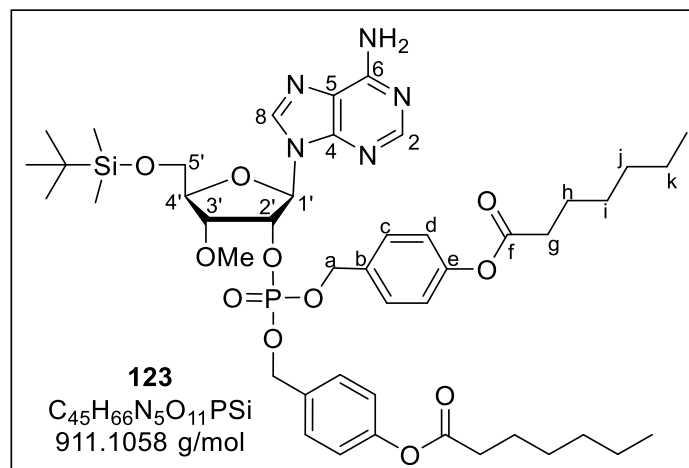
156.0 (C-6), 152.6 (C-2), 149.4 (C-4), 139.0 (C-8), 118.9 (C-5), 87.5 (C-1'), 81.9 (C-4'), 79.0 (C-3'), 72.6 (C-2'), 62.7 (C-5'), 57.4 (OCH<sub>3</sub>), 25.9 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), -5.6 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3277, 3100, 2930, 2882, 2856, 1678, 1605, 1574, 1476, 1428, 1411, 1376, 1359, 1341, 1323, 1303, 1268, 1250, 1224, 1193, 1162, 1144, 1111, 1091, 1071, 1046, 1017, 979, 956, 919, 873, 833, 798, 781, 721, 665, 647, 594, 556, 542, 522; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 396.2062 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 396.2076 [M+H]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))-(5'-O-tert-butylidimethylsilyl)-3'-desoxy-3'-methoxyadenosin)-2'-phosphat (123)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 722 mg 3'-Methoxy-5'-O-tert-butylidimethylsilyladenosen **124** (1.83 mmol, 1.00 Äquiv.) in 36 mL abs. Dichlormethan suspendiert. Im Anschluss wurden 1.65 g Amidit **72** (2.74 mmol, 1.50 Äquiv.) zum Reaktionsgemisch gegeben. Es wurden portionsweise im Abstand von 5 min 0.42 g Pyridiniumtrifluoacetat (2.19 mmol, 1.2 Äquiv.) zugegeben, wobei langsam eine Lösung entstand. Nachdem die Reaktionslösung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden diese auf 0 °C gekühlt und 0.55 mL einer 5.0 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in Decan (2.7 mmol, 1.5 Äquiv.)

zugegeben. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 2.5 h gerührt und im Anschluss unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 60:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.43 g (1.57 mmol, 86 %) eines farblosen amorphen Feststoffes. **DC** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v): 0.29; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.30 (s, 1H, H-8), 8.13 (s, 1H, H-2), 7.40-7.31 (m, 4H, NH<sub>2</sub>, H-c, H-c'), 7.26-7.22 (m, 2H, H-c, H-c'), 7.10-7.07 (m, 2H, H-d, H-d'), 7.06-7.03 (m,



2H, H-d, H-d'), 6.19 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, 1H, H-1'), 5.59 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 4.6 Hz, 1H, H-2'), 5.03 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.97 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.91 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 2H, H-a'), 4.20-4.17 (m, 1H, H-3'), 4.14-4.10 (m, 1H, H-4'), 3.91 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-5'), 3.78 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-5'), 3.40 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.57 (td, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.63 (m, 4H, H-h, H-h'), 1.39-1.33 (m, 4H, H-i, H-i'), 1.32-1.37 (m, 8H, H-j, H-j', H-k, H-k'), 0.90-0.86 (m, 6H, H-l, H-l'), 0.85 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.03 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.7 (C-f, C-f'), 156.1 (C-6), 152.6 (C-2), 150.5, 150.4 (C-e, C-e'), 149.1 (C-4), 138.9 (C-8), 133.1 (C-b, C-b'), 129.1, 129.0 (C-c, C-c'), 121.9, 121.8 (C-d, C-d'), 119.0 (C-5), 85.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C-1'), 81.8 (C-4'), 77.6 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 3.4 Hz, C-3'), 76.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.3 Hz, C-2'), 68.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, C-a), 68.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, C-a'), 62.0 (C-5'), 57.8 (OCH<sub>3</sub>), 33.4 (C-g, C-g'), 30.9 (C-k, C-k'), 28.0 (C-i, C-i'), 25.7 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24.3 (C-h, C-h'), 21.9 (C-j, C-j'), 18.0 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.9 (C-l, C-l'), -5.6 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -1.8; **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3303, 3149, 2953, 2927, 2856, 1757, 1677, 1601, 1572, 1509, 1467, 1417, 1372, 1328, 1295, 1253, 1200, 1167, 1137, 1118, 1080, 1030, 990, 957, 919, 877, 859, 827, 798, 772, 751, 724, 666, 598, 565, 537, 498; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 912.4338 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 912.4378 [M+H]<sup>+</sup>.

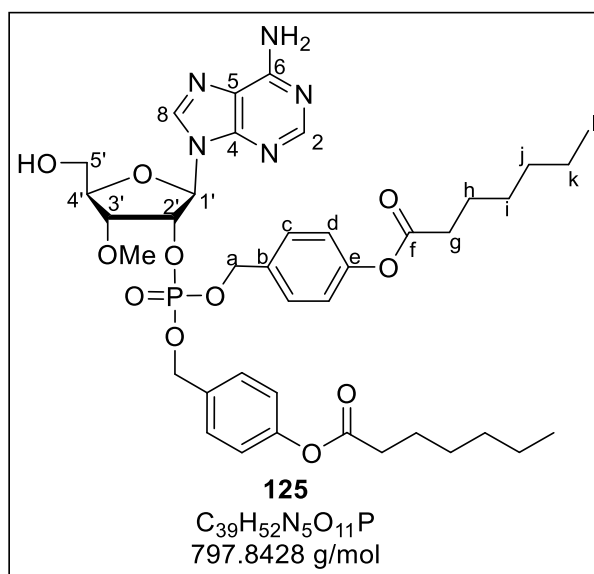
### Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))- (3'-methoxyadenosin)-2'-phosphat (125)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.30 g der TBDMS-geschützten Verbindung **123** (1.42 mmol, 1.0 Äquiv.) in 18 mL abs. Dichlormethan gelöst und anschließend 1.16 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (1.14 g, 7.10 mmol, 5.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem der Reaktionsansatz für 20 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde Kieselgel zum Reaktionsgemisch gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 30:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.03 g (1.29 mmol, 91 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.

**DC:** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 30:1 v/v): 0.39. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

8.40 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.42 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.33-7.29 (m, 2H, H-c), 7.22-7.18 (m, 2H, H-c'), 7.10-7.08 (m, 2H, H-d), 7.06-7.03 (m, 2H, H-d'), 6.20 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, 1H, H-1'), 5.62-5.55 (m, 2H, H-2', 5'-OH), 5.00 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-a),

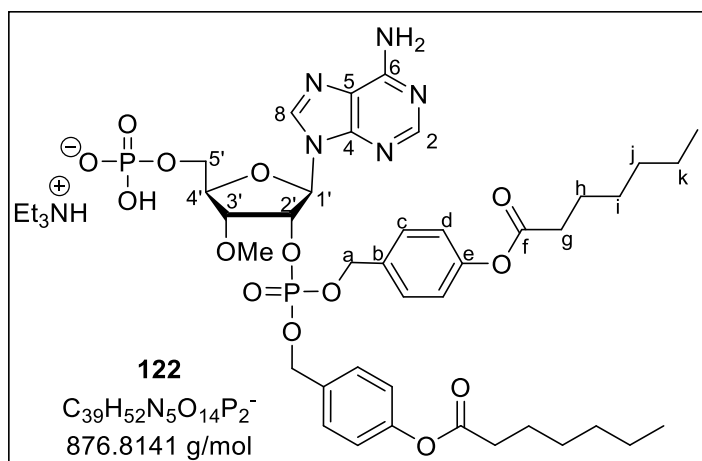


4.91 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.2 Hz, 1H, H-a), 4.83 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.17 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-4'), 4.14 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-3'), 3.76-3.71 (m, 1H, H-5'), 3.62-3.57 (m, 1H, H-5''), 3.40 (m, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.57 (t, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.63 (p, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-h, H-h'), 1.39-1.33 (m, 4H, H-i, H-i'), 1.33-1.26 (m, 8H, H-j, H-j', H-k, H-k') 0.90-0.85 (m, 6H, H-l, H-l'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.7, 171.7 (C-f, C-f') 156.3 (C-6), 152.6 (C-2), 150.5, 150.4 (C-e, C-e'), 148.9 (C-4), 139.7 (C-8), 133.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 7.2 Hz, C-b), 133.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 7.8 Hz, C-b'), 129.1, 129.0 (C-c, C-c'), 121.9, 121.8 (C-d, C-d'), 119.3 (C-5), 86.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 8.2 Hz, C-1'), 83.2 (C-4'), 78.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 3.1 Hz, C-3'), 76.8 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.2 Hz, C-2'), 68.4, (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, C-a), 68.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.5 Hz, C-a'), 61.1 (d, C-5'), 57.7 (OCH<sub>3</sub>), 33.4 (C-g, C-g'), 30.9 (C-j, C-j'), 28.0 (C-i, C-i'), 24.3 (C-h, C-h'), 21.9 (C-k, C-k'), 13.9 (C-l, C-l'); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -1.8; **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3326, 3176, 2929, 2858, 1755, 1645, 1598, 1578, 1509, 1467, 1422, 1369, 1334, 1260, 1198, 1166, 1138, 1098, 1073, 1025, 1001, 939, 919, 866, 830, 798, 725, 646, 633, 562, 499; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 798.3434 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 798.3432 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-heptanoyloxybenzyl))- (3'-methoxyadenosin)-2',5'-diphosphat (122)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.31 g des 2'-Monophosphats **125** (0.38 mmol, 1.0 Äquiv.) in 8 mL Trimethylphosphat gelöst. Nachdem die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt wurde, wurden 0.21 mL Phosphorylchlorid (POCl<sub>3</sub>) (0.35 g, 2.3 mmol, 6.0 Äquiv.) langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 6.5 h bei 0 °C gerührt. Da noch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte wurden weitere 0.38 mL Phosphorylchlorid (POCl<sub>3</sub>) (0.65 g, 4.2 mmol, 11 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung weitere 3 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zu einem 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer gegeben und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.33 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 0.27 g (0.29 mmol, 76 %) eines farblosen Feststoffs. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.42 (s, 1H, H-8), 8.41 (s, 1H, H-2), 7.39-7.30 (m, 4H, NH<sub>2</sub>, H-c), 7.24-7.21 (m, 2H, H-c'), 7.10-7.07 (m, 2H, H-d), 7.06-7.02 (m, 2H, H-d'), 6.21 (d, <sup>4</sup>J<sub>HF</sub> = 5.1 Hz, 1H, H-1'),



5.59-5.54 (m, 1H, H-2'), 5.01 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-a), 4.95 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a), 4.90-4.84 (m, 2H, H-a'), 4.27-4.23 (m, 1H, H-4'), 4.19 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, 1H, H-3'), 4.11-4.05 (m, 1H, H-5'), 3.98-3.21 (m, 1H, H-5''), 3.40 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.02 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, 3H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.66-1.59 (m, 4H, H-h, H-h'), 1.39-1.33 (m, 4H, H-i, H-i'), 1.32-1.25 (m, 8H, H-j, H-j', H-k, H-k'), 1.15 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90-0.85 (m, 6H, H-l, H-l'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.2 (C-f, C-f'), 156.6 (C-6), 153.3 (C-2), 150.9 (C-e, C-e'), 149.8 (C-4), 139.6 (C-8), 133.6 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.7 Hz, C-b oder C-b'), 133.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.6 Hz, C-b oder C-b'), 129.7, 129.6 (C-c, C-c'), 122.3, 122.3 (C-d, C-d'), 119.4 (C-5), 86.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.3 Hz, C-1'), 82.2 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 9.9 Hz, C-4'), 78.6 (C-3'), 77.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.5 Hz, C-2'), 68.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.3 Hz, C-a oder C-a'), 68.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.5 Hz, C-a oder C-a'), 64.4 (C-5'), 58.3 (OCH<sub>3</sub>), 45.8 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.9 (C-g, C-g'), 31.4 (C-k, C-k'), 28.5 (C-i, C-i'), 24.7 (C-h, C-h'), 22.4 (C-j, C-j'), 14.4 (C-l, C-l'), 8.9 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm]

(243 MHz, DMSO- $d_6$ ): -1.9 (P-2'), -0.3 (P-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3327, 3187, 2955, 2929, 2860, 1755, 1688, 1652, 1599, 1574, 1508, 1467, 1417, 1377, 1271, 1200, 1167, 1147, 1106, 1032, 1001, 970, 921, 891, 813, 720, 638, 566, 503; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 878.3137 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 878.3118 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-dodecanoyloxybenzyl))-5'-O-tert-butylidimethylsilyl-3'-methoxyadenosin)-2'-phosphat (**180**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 100 mg 3'-Methoxy-5'-O-tert-butylidimethylsilyl-adenosin **124** (0.253 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. Dichlormethan suspendiert. Im Anschluss wurden 281 mg Amidit **181** (0.379 mmol, 1.5 Äquiv.) zum Reaktionsgemisch gegeben und mit 8 mL Dichlormethan nachgespült. Es wurden portionsweise im Abstand von 5 min 58.6 mg Pyridiniumtrifluoracetat (0.303 mmol, 1.20 Äquiv.) zugegeben, wobei mit der Zeit eine Lösung entstand. Nachdem die Reaktionslösung für 80 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden diese auf 0 °C gekühlt und 0.08 mL einer 5.0 M Lösung aus tert-Butylhydroperoxid in Decan (0.4 mmol, 2 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 3.5 h gerührt und im Anschluss unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v).

**Ausbeute:** 206 mg (0.196 mmol, 78 %)

eines farblosen amorphen Feststoffs. **DC**

$R_f$ -Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v): 0.15;

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):

8.30 (s, 1H, H-8), 8.13 (s, 1H, H-2), 7.37

(s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.34-7.30 (m, 2H, H-c),

7.26-7.22 (m, 2H, H-c'), 7.10-7.06 (m, 2H,

H-d), 7.06-7.02 (m, 2H, H-d'), 6.20 (d,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, 1H, H-1'), 5.58 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> =

8.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, 1H, H-2'), 5.03 (dd,

<sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-a),

4.96 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz,

1H, H-a), 4.91 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.1 Hz, 2H, H-a),

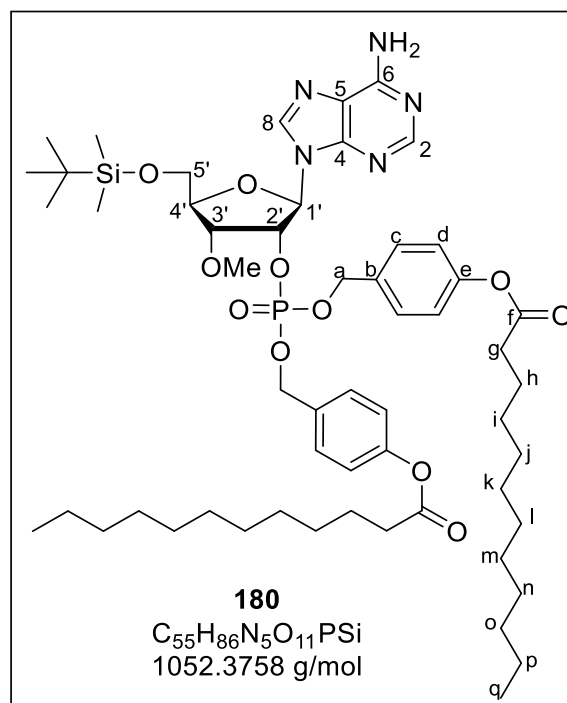
4.18 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 1H, H-3'), 4.14-4.09

(m, 1H, H-4'), 3.91 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-5'), 3.77 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, 1H, H-5''), 3.40 (s, 3H,

OCH<sub>3</sub>), 2.56 (td, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.6 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.66-1.59 (m, 4H, H-h, H-h'),

1.38-1.20 (m, 32H, H-i, H-i', H-j, H-j', H-k, H-k', H-l, H-l', H-m, H-m', H-n, H-n', H-o, H-o', H-



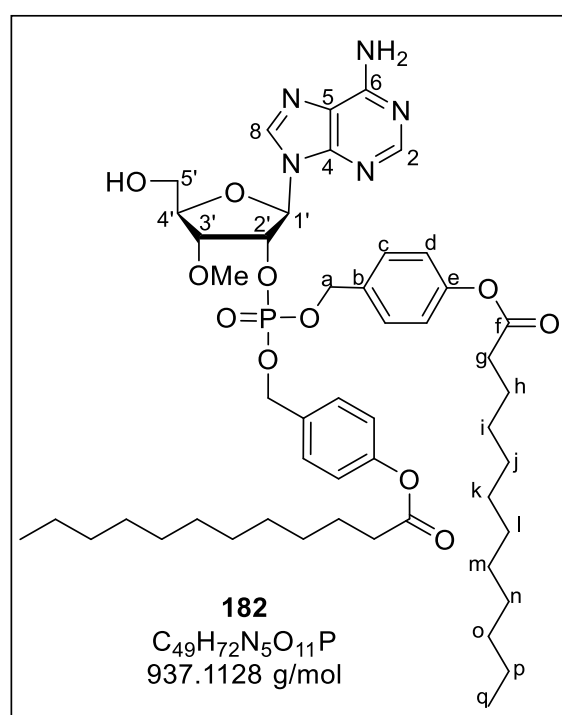
p, H-p'), 0.87-0.82 (m, 15H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, H-q, H-q'), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.03 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 172.2 (C-f, C-f'), 156.6 (C-6), 153.3 (C-2), 150.9 (C-e, C-e'), 149.6 (C-4), 139.5 (C-8), 133.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.0 Hz, C-b), 133.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C-b'), 129.6, 129.5 (C-c, C-c'), 122.3, 122.3 (C-d, C-d'), 119.5 (C-5), 86.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.9 Hz, C-1'), 82.3 (C-4'), 78.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 3.1 Hz, C-3'), 77.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.1 Hz, C-2'), 68.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.4 Hz, C-a), 68.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.4 Hz, C-a'), 62.5 (C-5'), 58.3 (OCH<sub>3</sub>), 33.9 (C-g, C-g'), 31.8, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.9 (C-i, C-i', C-j, C-j', C-k, C-k'), 26.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24.9 (C-h, C-h'), 22.5 (C-p, C-p'), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 14.4 (C-q, C-q'), -5.0 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (243 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): -1.8; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3286, 3150, 2923, 2853, 1759, 1678, 1602, 1572, 1509, 1466, 1417, 1372, 1328, 1296, 1253, 1201, 1167, 1136, 1118, 1080, 1031, 991, 958, 921, 877, 860, 827, 798, 772, 752, 723, 686, 666, 565, 538, 500; HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 1052.5903 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 1052.5900 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-dodecanoyloxybenzyl))- (3'-methoxyadenosine)-2'-phosphat (182)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.88 g der TBDMS-geschützten Verbindung **180** (0.18 mmol, 1.0 Äquiv.) in 7 mL abs. Dichlormethan gelöst und anschließend 0.15 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (0.14 g, 0.89 mmol, 5.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem der Reaktionsansatz für 18 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden weitere 0.15 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (0.14 g, 0.89 mmol, 5.0 Äquiv.) zugegeben und die Reaktion weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde Kieselgel zum Reaktionsgemisch gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.15 g (0.16 mmol, 88 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.

**DC:** *R<sub>F</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.39. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.39 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.41 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.32-7.27 (m, 2H, H-c), 7.21-7.17 (m, 2H, H-c'), 7.10-7.06 (m, 2H, H-d), 7.06-7.02 (m, 2H, H-d'), 6.19 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, 1H, H-1'), 5.61-5.54 (m, 2H, H-2', 5'-OH), 4.99 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.9 Hz, 1-H, H-a), 4.90 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.4 Hz, 1-H, H-a), 4.84-4.79 (m, 2H, H-a), 4.84-4.79 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.74 (dt, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, 1H, H-5'),



3.64-3.56 (m, 1H, H-5''), 3.40 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.56 (t, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.63 (p, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 4H, H-h, H-h'), 1.40-1.17 (m, 32H, H-i, H-i', H-j, H-j', H-k, H-k', H-l, H-l', H-m, H-m', H-n, H-n', H-o, H-o', H-p, H-p'), 0.88-0.82 (m, 6H, H-q, H-q'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.7, 171.7 (C-f, C-f') 156.2 (C-6), 152.7 (C-2), 150.5, 150.4 (C-e, C-e'), 148.9 (C-4), 139.7 (C-8), 133.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 8.3 Hz, C-b), 133.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 7.7 Hz, C-b'), 129.1, 129.0 (C-c, C-c'), 121.8, 121.8 (C-d, C-d'), 119.3 (C-5), 86.1 (C-1'), 83.2 (C-4'), 78.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 3.4 Hz, C-3'), 76.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.7 Hz, C-2'), 68.4, (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.5 Hz, C-a), 68.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.0 Hz, C-a'), 61.1 (C-5'), 57.7 (OCH<sub>3</sub>), 33.4 (C-g, C-g'), 31.3, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-i', C-j, C-j', C-k, C-k', C-l, C-l', C-m, C-m', C-n, C-n', C-o, C-o'), 24.5 (C-h, C-h'), 22.1 (C-p, C-p'), 14.0 (C-q, C-q'); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -1.8; **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3328, 3185, 2955, 2922, 2853, 1757, 1649, 1600, 1579, 1509, 1467, 1420, 1374,

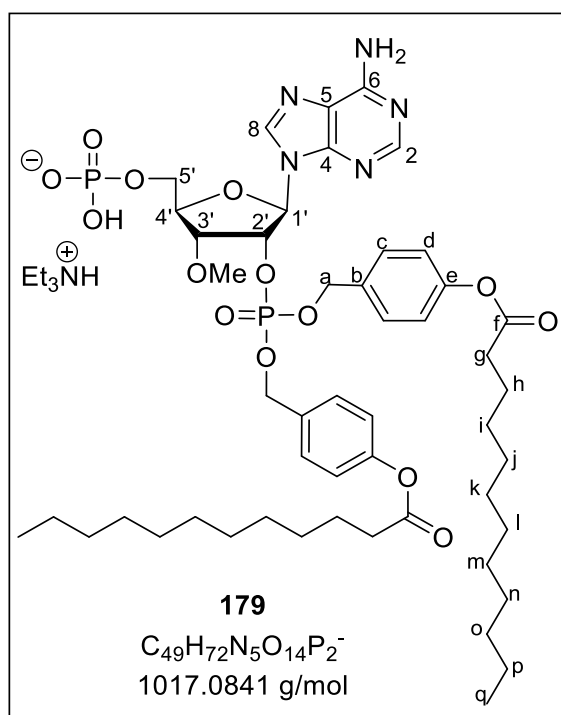
1331, 1261, 1200, 1167, 1139, 1105, 1026, 1007, 921, 890, 868, 830, 798, 722, 646, 587, 564, 500; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 938.5039 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 938.5046 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(Bis-O-(4-dodecanoyloxybenzyl))-3'-methoxyadenosine-2',5'-diphosphat (179)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.13 g des 2'-Monophosphats **182** (0.14 mmol, 1.0 Äquiv.) in 11 mL Trimethylphosphat gelöst. Nachdem die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt wurde, wurden 0.04 mL Triethylamin (0.03 g, 0.3 mmol, 2 Äquiv.) und 0.08 mL Phosphorylchlorid (0.1 g, 0.9 mmol, 6 Äquiv.) langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 4 h bei 0 °C gerührt. Da noch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte wurden weitere 0.08 mL Phosphorylchlorid (0.1 g, 0.9 mmol, 6 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung weitere 2 h bei 0 °C gerührt. Es wurden im Anschluss weitere 0.36 mL Phosphorylchlorid (0.61 g, 4.0 mmol, 28 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung 4 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zu einem 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer getropft und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.30 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 0.45 g (0.04 mmol, 30 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.40 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.35 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.33-7.30 (m, 2H, H-c), 7.24-7.21 (m, 2H, H-c'), 7.09-7.07 (m, 2H, H-d), 7.05-7.02 (m, 2H, H-d'), 6.22 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, 1H, H-1'), 5.57 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-2'), 5.01 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-a), 4.95 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.4 Hz, 1H, H-a), 4.91-4.83 (m, 2H, H-a), 4.26 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, 1H, H-4'), 4.20 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, 1H, H-3'), 4.13-4.08 (m, 1H, H-5'), 4.01-3.95 (m, 1H, H-5''), 3.40 (s, 3H,



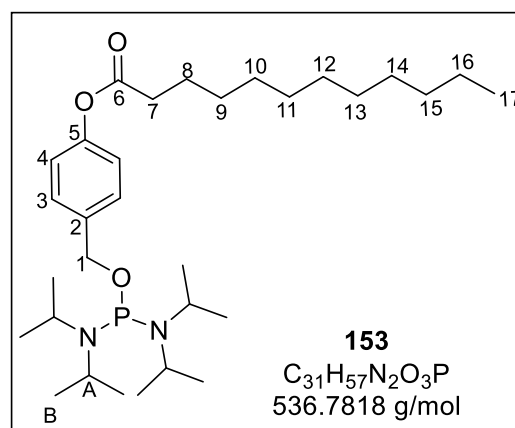
OCH<sub>3</sub>), 3.06 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 2H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-g, H-g'), 1.38-1.20 (m, 32H, H-i, H-i', H-j, H-j', H-k, H-k', H-l, H-l', H-m, H-m', H-n, H-n', H-o, H-o', H-p, H-p'), 1.16 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 2H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.87-0.83 (m, 6H, H-q, H-q'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ

[ppm] (151 MHz, DMSO- $d_6$ ): 171.7, 171.7 (C-f, C-f'), 156.1 (C-6), 152.8 (C-2), 150.5, 150.4 (C-e, C-e'), 149.2 (C-4), 139.1 (C-8), 133.2 (d,  $^3J_{CP} = 7.3$  Hz, C-b), 133.1 (d,  $^3J_{CP} = 7.5$  Hz, C-b'), 129.2, 129.1 (C-c, C-c'), 121.9, 121.8 (C-d, C-d'), 118.9 (C-5), 85.7 (d,  $^3J_{CP} = 8.8$  Hz, C-1'), 80.7 (C-4'), 78.0 (C-3'), 76.7 (d,  $^2J_{CP} = 5.2$  Hz, C-2'), 68.4, (d,  $^2J_{CP} = 5.5$  Hz, C-a), 68.3 (d,  $^2J_{CP} = 5.7$  Hz, C-a'), 64.1 (C-5'), 57.9 (OCH<sub>3</sub>), 45.6 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.4 (C-g, C-g'), 31.3 (C-o, C-o'), 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-i', C-j, C-j', C-k, C-k', C-l, C-l', C-m, C-m', C-n, C-n'), 24.8 (C-h, C-h'), 22.1 (C-p, C-p'), 14.0 (C-q, C-q'), 8.6 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  **$^{31}\text{P-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (243 MHz, DMSO- $d_6$ ): -1.9 (P-2'), -0.6 (P-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2957, 2923, 2852, 2160, 1756, 1701, 1607, 1508, 1466, 1419, 1376, 1261, 1203, 1168, 1138, 1108, 1034, 1006, 972, 926, 888, 814, 742, 720, 686, 643, 631, 596, 569, 548, 520, 492, 476, 468, 449, 425; **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 1016.4556 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1016.4555 [M-H]<sup>-</sup>.

### Darstellung von Bis(*N,N*-diisopropylamino)-*O*-(4-dodecanoyloxybenzyl)-phosphoramidit (**153**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.3 g Bisamidit **152** (4.8 mmol, 1.2 Äquiv.) in 30 mL abs. Diethylether suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus 1.2 g AB-Maske **149** (4.0 mmol, 1.0 Äquiv.), 0.78 mL Triethylamin (0.57 g, 5.6 mmol, 1.4 Äquiv.) in 20 mL abs. Diethylether sehr langsam zugetropft und mit 10 mL Diethylether nachgespült. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rückstands erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/Et<sub>3</sub>N 9:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.7 g (3.1 mmol, 77 %) eines farblosen Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/Et<sub>3</sub>N 9:1 v/v): 0.92;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.38-7.34 (m, 2H, H-3), 7.08-7.03 (m, 2H, H-4), 4.62 (d,  $^3J_{HP} = 7.3$  Hz, 2H, H-1), 3.57 (dsept.,  $^3J_{HP} = 10.9$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.8$  Hz, 4H, H-A), 2.54 (t,  $^3J_{HH} = 7.5$  Hz, 2H, H-7), 1.74 (quin.,  $^3J_{HH} = 7.4$  Hz, 2H, H-8), 1.45-1.23 (m, 16H, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16), 1.20-1.15 (m, 24H, H-B), 0.91-0.85 (t,  $^3J_{HH} = 6.8$  Hz, 3H, H-17);  **$^{31}\text{P-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 123.6 (s).

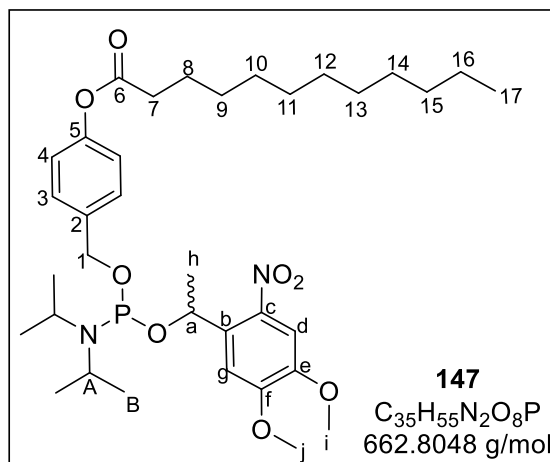


### Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl)-O-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)ethyl)-diisopropylphosphoramidit (**147**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.7 g Bisamidit **153** (3.1 mmol, 1.5 Äquiv.) in 13.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus 0.47 g der Photomaske **148** (2.1 mmol, 1.0 Äquiv.), 8.2 mL DCI (25 M in CH<sub>3</sub>CN, 2.1 mmol, 1.0 Äquiv.) und 7.0 mL abs. Tetrahydrofuran in 5.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN langsam über 20 min zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden unter vermindertem Druck entfernt und die Reinigung des Rückstands erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/Et<sub>3</sub>N 5:1 v/v).

**Ausbeute:** 1.13 g (1.70 mmol, 83 %)

eines gelben Öls. Das Produkt ist ein Gemisch aus vier Diastereomeren. Es konnten zwei der vier Diastereomere jeweils mit eigenen Signalen im <sup>1</sup>H-NMR und <sup>31</sup>P-NMR beobachtet werden. **DC** R<sub>f</sub>-Wert (PE/Et<sub>3</sub>N 9:1 v/v): 0.57; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.58-7.56 (m, 2H, H-d, 2ds), 7.38-7.35 (m, 2H, H-3, 2ds), 7.33-7.31 (m, 2H, H-g, 2ds), 7.24-7.20 (m, 2H, H-3, 2ds), 7.06-7.04 (m, 2H,



H-4, 1ds), 7.00-6.97 (m, 2H, H-4, 1ds), 5.78-5.69 (m, 2H, H-a, 2ds), 4.76 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.4 Hz, 1H, H-1, 1ds), 4.69-4.64 (m, 1H, H-1, 1ds), 4.62 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.7 Hz, 1H, H-1, 1ds), 4.54 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.7 Hz, 1H, H-1, 1ds), 3.95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.93 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>, 2ds), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.72-3.66 (m, 2H, H-A, 1ds), 3.61-3.54 (m, 2H, H-A, 1ds), 2.57-2.51 (m, 4H, H-7, 2ds), 1.78-1.71 (m, 4H, H-8, 2ds), 1.57-1.54 (m, 6H, H-h, 2ds), 1.43-1.22 (m, 38H, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-B, 2ds), 1.20-1.17 (m, 6H, H-B, 1ds), 1.16-1.14 (m, 6H, H-B, 1ds), 1.01 (d, <sup>4</sup>J<sub>HP</sub> = 6.8 Hz, 6H, H-B, 1ds), 0.88 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, 6H, H-17, 2ds); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.4 (C-6, 1ds), 172.3 (C-6, 1ds), 153.7 (C-f, 1ds), 153.6 (C-f, 1ds), 150.0, 150.0 (C-5, 2ds), 147.5, 147.5 (C-e, 2ds), 139.0 (C-c, 2ds), 137.1, 136.9, 136.8, 136.6 (C-2, 2ds, C-b, 2ds), 128.0, 127.9 (C-3, 2ds), 121.5, 121.4 (C-4, 2ds), 109.5, 109.4 (C-g, 2ds), 107.4, 107.3 (C-d, 2ds), 67.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 21.1 Hz, C-a, 1ds), 67.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 20.0 Hz, C-a, 1ds), 64.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 19.5 Hz, C-1, 1ds), 64.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 19.5 Hz, C-1, 1ds), 56.3, 56.3 56.2 (C-i, C-j, 2ds), 43.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 12.1 Hz, C-A, 1ds), 43.0 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 12.1 Hz, C-A, 1ds), 34.4, 34.4 (C-7, 2ds), 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 29.3, 29.1 (C-9, C-10, C-11, C-12, C-13, C-14, C-15), 25.2, 25.0 (C-h, 2ds), 24.9 (C-8, 1ds), 24.9 (C-8, 1ds), 24.7, 24.6, 24.6, 24.6, 24.5, 24.5, 24.5, 24.4 (C-B, 2ds), 22.7 (C-16, 2ds), 14.1 (C-17, 2ds); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 146.7 (s,

1ds), 146.6 (s, 1ds); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2924, 2925, 2854, 1759, 1613, 1581, 1518, 1461, 1417, 1395, 1365, 1333, 1272, 1218, 1198, 1183, 1164, 1137, 1105, 1081, 1058, 1013, 972, 920, 875, 852, 794, 756, 683, 640, 597, 557, 521. **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 685.3588 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 685.3582 [M+H]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl)-O-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)methyl)-5'-O-tert-butylidimethylsilyl-3'-methoxyadenosin-2'-phosphat (154)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.10 g 3'-Methoxy-5'-O-tert-butylidimethylsilyl-adenosin **124** (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) in 14 mL abs. Dichlormethan suspendiert. Im Anschluss wurden 0.25 g Amidit **147** (0.38 mmol, 1.5 Äquiv.) zur Suspension gegeben. Es wurden portionsweise im Abstand von 5 min 59 mg Pyridiniumtrifluoracetat (0.30 mmol, 1.2 Äquiv.) zugegeben, wobei mit der Zeit eine Lösung entstand. Nachdem die Reaktionslösung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden sie auf 0 °C gekühlt und 0.08 mL einer 5.0 M Lösung aus tert-Butylhydroperoxid in Decan (0.4 mmol, 2 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 4 h gerührt und im Anschluss unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 60:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.19 g (0.20 mmol, 79 %)

eines gelben amorphen Feststoffes. **DC**

*R<sub>F</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v): 0.08;

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.31

(s, 1H, H-8, 1ds), 8.27 (s, 1H, H-8, 1ds),

8.26-8.25 (m, 2H, H-8, 2ds), 8.18 (s, 1H,

H-2, 1ds), 8.17-8.16 (m, 2H, H-2, 2ds),

8.13 (s, 1H, H-2, 1ds), 7.57 (s, 1H, H-C,

1ds), 7.54-7.53 (m, 2H, H-C, 2ds), 7.50

(s, 1H, H-C, 1ds), 7.31-7.28 (m, 4H, H-c,

2ds), 7.27-7.24 (m, 4H, H-c, 2ds), 7.14 (s,

1H, H-F, 1ds), 7.12-7.10 (m, 2H, H-F,

2ds), 7.07-6.99 (m, 9H, H-F, 1ds, H-d,

4ds), 6.17 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, 1H, H-1',

1ds), 6.14-6.10 (m, 3H, H-1', 3ds), 5.47-

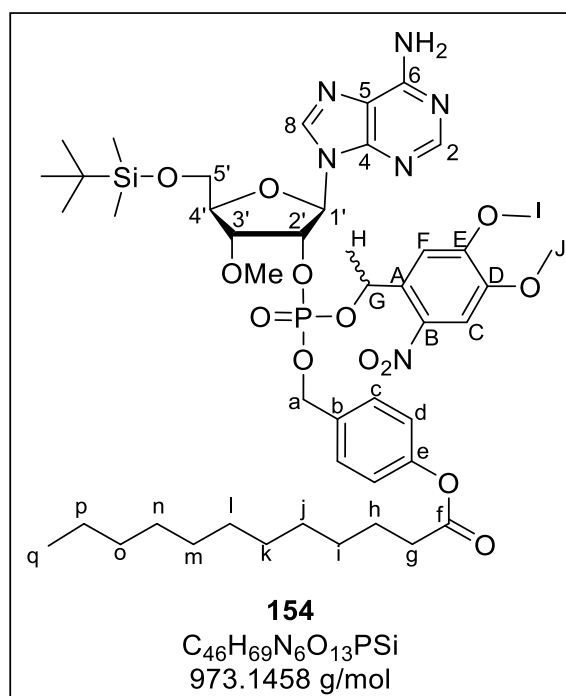
5.38 (m, 3H, H-2', 3ds), 5.34-5.31 (m, 1H, H-2',

1ds), 5.09-4.99 (m, 8H, H-a, 4ds), 4.20-4.11

(m, 4H, H-3', 3ds, H-4', 1ds), 4.10-4.03 (m, 4H, H-3',

1ds, H-4', 3ds), 4.03-3.95 (m, 4H, H-5',

H-5'', 2ds), 3.95-3.91 (m, 5H, H-I, H-J, 4ds), 3.90 (s, 3H, H-I/H-J,

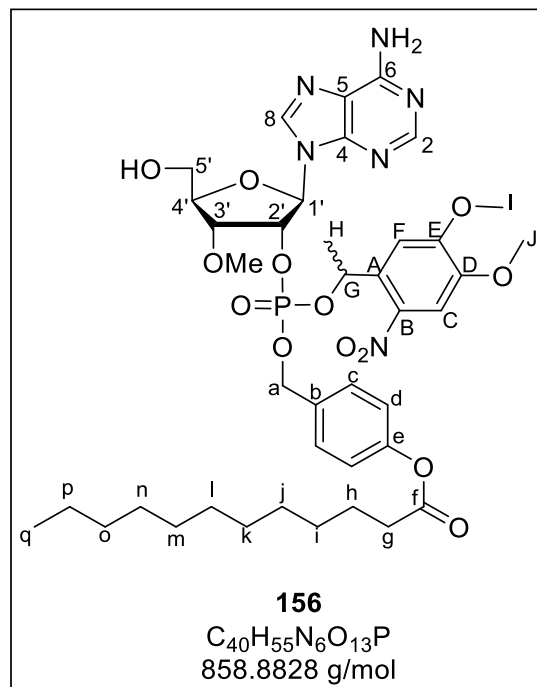


J, 1ds), 3.83 (s, 3H, H-I/H-J, 1ds), 3.81-3.76 (m, 4H, H-5', H-5'', 2ds), 3.44-3.43 (m, 6H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 2ds), 3.41 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.35 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 2.57-2.51 (m, 8H, H-g, 4ds), 1.77-1.70 (m, 8H, H-h, 4ds), 1.68-1.62 (m, 6H, H-H, 2ds), 1.59-1.54 (m, 6H, H-H, 2ds), 1.43-1.23 (m, 64H, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 4ds), 0.95-0.84 (m, 48H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 4ds, H-q, 4ds), 0.14-0.05 (m, 24H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 4ds); <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.3, 172.3 (C-f, 4ds), 155.4, 155.3, 155.3 (C-5, 4ds), 153.9, 153.9, 153.9, 153.9 (C-E, 4ds), 153.1, 153.1 (C-8, 4ds), 151.1, 151.1, 151.1, 151.0 (C-e, 4ds), 149.7, 149.6, 149.6, 149.5 (C-4, 4ds), 148.3, 148.2 (C-D, 4ds), 139.3, 139.3 (C-2, 2ds), 139.1, 139.1, 139.1, 139.0 (C-2, 2ds, C-B, 2ds), 139.0, 139.0 (C-B, 2ds), 133.4, 133.3, 133.3, 133.2, 133.1, 133.1, 133.0, 133.0 (C-a, 4ds, C-b, 4ds), 129.3, 129.2, 129.1, 129.0 (C-c, 4ds), 122.0, 122.0, 121.9 (C-d, 4ds), 120.2, 120.1 (C-6, 4ds), 108.7, 108.7, 108.6, 108.5 (C-F, 4ds), 107.6, 107.6, 107.6, 107.4 (C-C, 4ds), 87.5, 87.5, 87.4, 87.3 (C-1', 4ds), 82.4, 82.3, 82.2, 82.0 (C-4', 4ds), 77.9, 77.9, 77.9, 77.8, 77.7, 77.7 (C-3', 4ds, C-2', 4ds), 73.9, 73.8, 73.7, 73.6 (C-G, 4ds), 69.2, 69.1, 69.1, 69.0 (C-a, 4ds), 61.9, 61.8, 61.6, 61.5 (C-5', 4ds), 58.9, 58.5, 58.6 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.7, 56.7, 56.6, 56.6, 56.5, 56.5, 56.5 (C-I, 4ds, C-J, 4ds), 34.5 (C-g, 4ds), 32.0, 29.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, 4ds), 26.2, 26.2, 26.0, 26.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.1 (C-h, 4ds), 24.4, 24.3, 24.3, 24.2 (C-H, 4ds), 18.6, 18.5 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 14.4, 14.3, 14.3, 14.2 (C-q, 4ds), -5.2, -5.3 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -1.2, -1.4, -1.5, -2.1 (s, P-2', 4 ds); IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3156, 2925, 2854, 1759, 1680, 1643, 1601, 1520, 1464, 1418, 1374, 1329, 1274, 1274, 1220, 1202, 1167, 1136, 1117, 1078, 989, 874, 860, 829, 795, 774, 757, 724, 666, 647, 599, 565, 501 ; HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 973.4502 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 973.4515 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl)-O-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)methyl)-3'-methoxyadenosin-2'-phosphat (156)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.14 g der TBDMS-geschützten Verbindung **154** (0.14 mmol, 1.0 Äquiv.) in 5.0 mL abs. Dichlormethan gelöst und anschließend 0.12 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (0.11 g, 0.71 mmol, 5.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 10 h bei Raumtemperatur gerührt. Da jedoch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte wurden weitere 0.12 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (0.11 g, 0.71 mmol, 5.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem der Reaktionsansatz für weitere 15 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde Kieselgel zum Reaktionsgemisch gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.11 g (0.13 mmol, 90 %) eines gelblichen amorphen Feststoffes. **DC:**  $R_f$ -Wert ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  20:1 v/v): 0.18.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.26-8.16 (m, 4H, H-8, 4ds), 7.98-7.87 (m, 4H, H-2, 4ds), 7.56 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.54-7.51 (m, 2H, H-C, 2ds), 7.50 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.20-7.13 (m, 6H, H-c, 3ds), 7.12-7.08 (m, 2H, H-c, 1ds), 7.04-6.95 (m, 12H, H-F, 4ds H-d, 4ds), 6.15-6.05 (m, 4H, H-G, 4ds), 5.96-5.93 (m, 3H, H-1', 3ds), 5.91 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, 1H, H-1', 1ds), 5.56-5.46 (m, 4H, H-2', 4ds), 4.91 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 8.7$  Hz, 1H, H-a, 1ds), 4.87-4.80 (m, 4H, H-a, 2ds), 4.77-4.71 (m, 3H, H-a, 2ds), 4.30-4.23 (m, 4H, H-4', 4ds), 4.19-4.13 (m, 2H, H-3', 2ds), 4.10 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz, 1H, H-3', 1ds), 4.03 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz, 1H, H-3', 1ds), 3.97-3.86 (m, 28H, H-5', H-5'', 2ds, H-I, H-J, 4ds), 3.72-3.64 (m, 4H, H-5', H-5'', 2ds), 3.49-3.37 (m, 12H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 4ds), 2.58-2.51 (m, 8H, H-g, 4ds), 1.78-1.71 (m, 8H, H-h, 4ds), 1.58 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz, 3H, H-H, 1ds), 1.52-1.47 (m, 9H, H-H, 3ds), 1.43-1.23 (m, 64H, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p) 0.90-0.85 (m, 12H, H-q, H-q', 4ds);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 172.4, 172.4, 172.4, 172.3 (C-f, 4ds) 153.8, 153.7 (C-5, 4ds), 151.0, 151.0, 151.0 (C-e, 4ds), 150.0 (C-8, 4ds), 148.4, 148.3, 148.3, 148.2, 148.1 (C-4, C-E, C-D, 4ds), 141.4 (C-2, 4ds), 138.9 (C-B, 4ds), 1132.4 (C-b, C-A, 4ds), 129.0, 129.0, 129.0, 129.0 (C-c, 4ds), 122.0, 122.0, 122.0, 122.0 (C-d, 4ds), 108.4, 108.4, 108.3, 108.1 (C-F, 4ds), 107.4, 107.4 (C-C, 4ds), 88.6, 88.6, 88.6 (C-1', 4ds), 85.3, 85.3 (C-4', 4ds), 79.7 (C-3', 4ds), 77.4 (d, C-2', 4ds), 73.6, 73.6, 73.5 (C-G, 4ds), 69.2, 69.2, 69.1, 69.1 (C-a, 4ds), 62.7 (C-5', 4ds), 58.6, 58.6, 58.5, 58.5 (3'-OCH<sub>3</sub>, 4ds), 56.6, 56.6, 56.5, 56.4, 56.4 (C-I, C-J, 4ds), 34.4 (C-g, 4ds), 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 29.3, 29.1 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, 4ds), 24.9, 24.9 (C-h, 4ds), 24.1, 24.0, 23.9, 23.9 (C-H, 4ds), 14.1 (C-q, 4ds);  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (243 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): -3.1, -3.23 -3.4, -3.4 (s, P-2', 4 ds); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3329, 3181, 2923, 2853, 1757, 1644, 1598, 1579, 1520, 1464, 1374, 1330, 1274, 1219, 1201, 1168, 1137, 1075, 999, 868, 832, 796, 757, 722, 686, 647, 634, 597, 565, 501; **HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z):** ber.: 859.3637 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 859.3639 [M+H]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl)-O-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)methyl)-3'-methoxyadenosin-2',5'-diphosphat (155)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 50 mg des 2'-Monophosphats **156** (58  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) in 4.0 mL Trimethylphosphat gelöst. Es wurden 0.02 mL Triethylamin (0.01 g, 0.1 mmol, 2 Äquiv.) zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt wurde, wurden 64  $\mu\text{L}$  Phosphorylchlorid (0.11 g, 0.70 mmol, 12 Äquiv.) langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 5.5 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zu einem 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ -Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.26 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 46 mg (0.048 mmol, 82 %) eines

leicht gelben amorphen Feststoffs.  **$^1\text{H-NMR}$ :**

$\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.42-8.39 (m,

2H, H-8, 2ds), 8.35-8.32 (m, 2H, H-8, 2ds),

8.14-8.13 (m, 2H, H-2, 2ds), 8.10 (s, 1H, H-

2, 1ds), 8.07 (s, 1H, H-2, 1ds), 7.55-7.54 (m,

2H, H-C, 2ds), 7.51 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.49

(s, 1H, H-C, 1ds), 7.39-7.26 (m, 10H,  $\text{NH}_2$ ,

3ds, H-c, 1ds), 7.26-7.21 (m, 4H, H-c, 1ds,

$\text{NH}_2$ , 1ds), 7.19-7.16 (m, 4H, H-C, 2ds),

7.13-6.99 (m, 12H, H-d, 4ds, H-F, 4ds), 6.19

(d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.8$  Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.14 (d,  $^3J_{\text{HH}}$

= 5.0 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.10 (d,  $^3J_{\text{HH}} =$

4.3 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.06-5.99 (m, 4H, H-

1', 1ds, H-G, 2ds), 5.99-5.90 (m, 2H, H-G, 2ds),

5.59-5.51 (m, 3H, H-2', 3ds), 5.44 (ddd,

$^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, 1H, H-2', 1ds),

4.99 (d,  $^3J_{\text{HP}} = 8.2$  Hz, 2H, H-a,

1ds), 4.94-4.81 (m, 6H, H-a, 3ds), 4.21-4.15 (m, 4H, H-3', 2ds, H-4', 2ds),

4.15-4.10 (m, 2H, H-3', 2ds), 4.09-4.00 (m, 4H, H-5', 4ds),

4.00-3.87 (m, 6H, H-5'', 4ds, H-3'', 2ds), 3.87-3.82

(m, 18H, H-J, H-I, 3ds), 3.80 (s, 3H, H-J/H-I, 1ds),

3.76 (s, 3H, H-J/H-I, 1ds), 3.40 (s, 3H,

3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.37-3.34 (m, 6H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 2ds),

3.31 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.02 (q,  $^3J_{\text{HH}} =$

7.3 Hz, 9H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 2.59-2.53 (m, 8H, H-g, 4ds),

1.66-1.59 (m, 8H, H-h, 4ds), 1.54 (d,

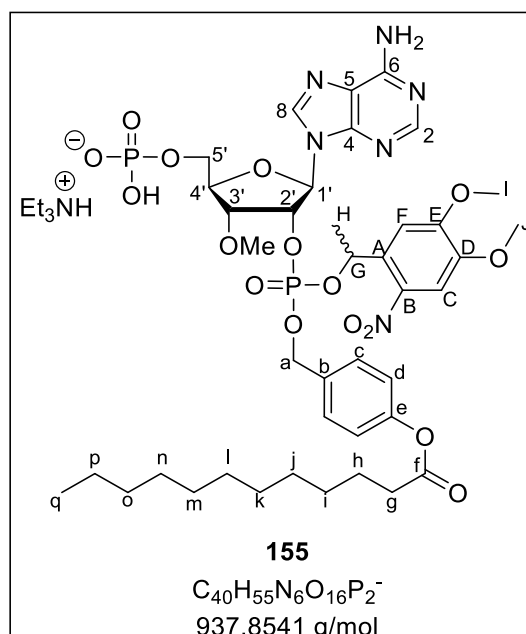
$^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz, 3H, H-H, 1ds), 1.48 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz, 3H, H-H, 1ds),

1.38-1.20 (m, 64H, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 4ds),

1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 13H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.87-0.82

(m, 12H, H-q, 4ds);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 171.7 (C-f, 4ds), 156.1, 156.1,

156.0, 156.0 (C-6, 4ds), 153.4, 153.4, 153.4, 153.4 (C-E, 4ds), 152.8, 152.7, 152.7 (C-2,

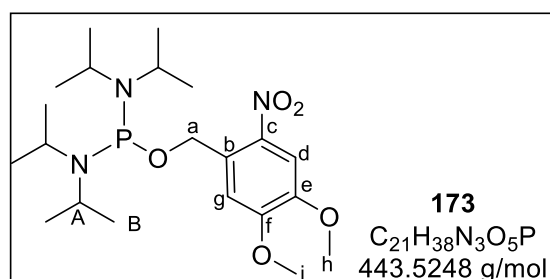


4ds), 150.4, 150.4, 150.4 (C-e, 4ds), 149.3, 149.2, 149.2, 149.1 (C-4, 4ds), 148.0, 147.9, 149.0 (C-D, 4ds), 138.9 (C-8, 4ds), 138.7, 138.6, 138.6, 138.4 (C-B, 4ds), 133.1, 133.0, 133.0 (C-b, 4ds), 131.5 (C-A, 4ds), 128.9, 128.9, 128.8, 128.7 (C-c, 4ds), 121.8, 121.8, 121.7 (C-d, 4ds), 118.9, 118.9, 118.8 (C-5, 4ds), 108.8, 108.7, 106.6, 108.5 (C-F, 4ds), 107.4, 107.4, 107.3 (C-C, 4ds), 85.6 (C-1', 4ds), 80.6 (C-4', 4ds), 78.0, 78.0, 77.9, 77.7 (C-3', 4ds), 76.8, 76.7, 76.5, 76.4 (C-2', 4ds), 72.4, 72.4, 72.4, 72.3 (C-G, 4ds), 68.4, 68.3, 68.2, 68.2 (C-a, 4ds), 63.7 (C-5', 4ds), 57.8, 57.8, 57.8, 57.7 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.2, 56.2, 56.1, 56.1, 56.1, 56.0 (C-I, C-J, 4ds), 45.3 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.4 (C-g, 4ds), 31.4.3, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, 4ds), 24.3 (C-h, 4ds), 23.6, 23.6, 23.4, 23.3 (C-H, 4ds), 22.1 (C-p, 4ds), 13.9 (C-q, 4ds), 8.5 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (243 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): -0.3 (s, P-5', 4 ds), -2.6, -2.8, -3.2, -3.4 (s, P-2', 4 ds); IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3117, 2925, 2854, 1759, 1694, 1607, 1581, 1520, 1464, 1377, 1330, 1275, 1220, 1168, 1138, 1108, 1076, 1006, 966, 873, 814, 795, 758, 719, 643, 598, 565, 508; HRMS (ESI, m/z): ber.: 937.3155 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 937.3156 [M-H]<sup>-</sup>.

### Darstellung von O-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-bis-(N,N-diisopropylamin)phosphoramidit (173)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.75 g Bis-(N,N-diisopropylamino)chlorphosphoramidit **152** (2.8 mmol, 1.2 Äquiv.) in 25 mL abs. THF suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus 0.50 g des Alkohols **165** (2.3 mmol, 1.0 Äquiv.) und 0.46 mL Triethylamin (0.33 g, 3.3 mmol, 1.4 Äquiv.) in 20 mL abs. THF langsam über 30 min zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde für 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert, der Filterkuchen mit Ethylacetat gewaschen und alle flüchtigen Bestandteile des Filtrats unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 5:1 v/v, 5 % Et<sub>3</sub>N) gereinigt.

**Ausbeute:** 0.60 g (1.4 mmol, 58 %) eines gelben Feststoffs. DC R<sub>f</sub>-Wert (PE/EE 5:1 v/v, 5 % Et<sub>3</sub>N): 0.89; <sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.73 (s, 1H, H-d), 7.48 (s, 1H, H-g), 5.04 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 6.7 Hz, 2H, H-a), 3.96 (s, 3H, H-i), 3.95 (s, 3H, H-h), 3.67-3.55 (m, 4H, H-A), 1.25-1.19 (m,



24H, H-B); <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 153.8 (C-f), 147.2 (C-e), 138.6 (C-c), 133.5 (C-b), 109.6 (C-g), 107.8 (C-d), 63.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 24.3 Hz, C-a), 56.5, 56.4 (C-h, C-j), 44.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 12.3 Hz, C-A), 24.6 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.9 Hz, C-B), 24.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.2 Hz, C-B'); <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 148.6; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2964, 2930, 2868, 1579, 1517, 1501,

1461, 1450, 1434, 1390, 1362, 1319, 1270, 1253, 1218, 1185, 1155, 1128, 1113, 1069, 1039, 1022, 986, 951, 873, 853, 796, 783, 757, 731, 719, 670, 643, 622, 600, 561, 527;  
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 482.2181 [M+K]<sup>+</sup>, gef.: 482.2382 [M+K]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl))-O-(1-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl))-diisopropylphosphoramidit (**172**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.53 g Bisamidit **152** (1.2 mmol, 1.5 Äquiv.) in 6 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus 0.25 g des Alkohols **149** (0.80 mmol, 1.0 Äquiv.) und 3.2 mL DCI (25 M in CH<sub>3</sub>CN, 0.80 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Tetrahydrofuran langsam über 15 min zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden unter vermindertem Druck entfernt und die Reinigung des Rückstands erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 5:1 v/v, 5 % Et<sub>3</sub>N).

**Ausbeute:** 0.50 g (0.71 mmol, 89 %)

eines orangenen amorphen Feststoffs.

**DC** R<sub>F</sub>-Wert (PE/EE 5:1 v/v, 5 % Et<sub>3</sub>N):

0.79; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

7.72 (s, 1H, H-d), 7.39-7.34 (m, 3H, H-3,

H-g), 7.06-7.02 (m, 2H, H-4), 5.17 (dd,

<sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 15.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.5 Hz, 1H, H-a),

5.13 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 15.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.5 Hz,

1H, H-a), 4.80 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> =

7.5 Hz, 1H, H-1), 4.70 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.5 Hz,

<sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.5 Hz, 1H, H-1'), 3.95 (s, 3H, H-h),

3.87 (s, 3H, H-i), 3.77-3.70 (m, 2H, H-A), 2.54 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, 2H, H-7), 1.74 (p, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> =

7.5 Hz, 2H, H-8), 1.42-1.37 (m, 2H, H-9), 1.36-1.20 (m, 26H, H-10, H-11, H-12, H-13, H-14,

H-15, H-16, H-B), 0.88 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, 3H, H-17); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

172.6 (C-6), 154.0 (C-f), 150.2 (C-5), 147.6 (C-e), 138.9 (C-c), 136.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.7 Hz, C-2),

132.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.7 Hz, C-b), 128.2 (C-3), 121.6 (C-4), 109.7 (C-g), 108.0 (C-d), 65.1 (d,

<sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 18.9 Hz, C-1), 62.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 22.0 Hz, C-a), 56.5, 56.4 (C-h, C-j), 43.4 (d,

<sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 12.6 Hz, C-A), 34.5 (C-7), 32.1, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3 (C-9, C-10, C-11, C-12,

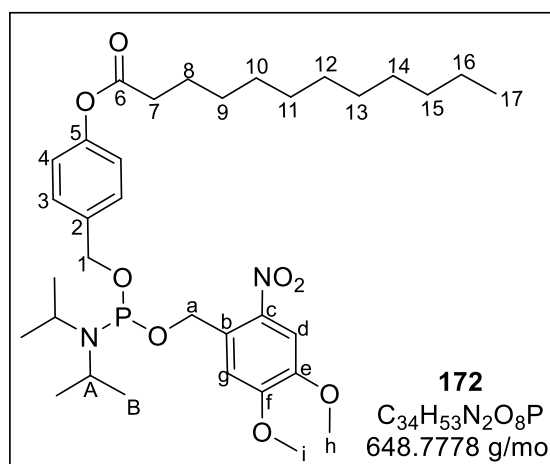
C-13, C-14, C-15), 25.1 (C-8), 24.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.6 Hz, C-B), 24.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.2 Hz, C-B'),

22.8 (C-16), 14.3 (C-17); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 148.6; **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]:

2964, 2924, 2853, 1759, 1615, 1579, 1519, 1462, 1437, 1395, 1374, 1364, 1325, 1273,

1219, 1198, 1183, 1163, 1136, 1070, 1025, 1011, 974, 918, 874, 853, 794, 755, 673, 640,

601, 521, 461; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 649.3612 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 649.3593 [M+H]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl)-O-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-5'-O-*tert*-butyldimethylsilyl-3'-methoxyadenosin-2'-phosphat (174)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.10 g 3'-Methoxy-5'-O-*tert*-butyldimethylsilyl-adenosin **124** (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) in 7.0 mL abs. Dichlormethan suspendiert. Im Anschluss wurden eine Lösung aus 0.25 g Amidit **172** (0.38 mmol, 1.5 Äquiv.) in 7.0 mL abs. Dichlormethan zur Suspension gegeben. Es wurden portionsweise im Abstand von 5 min 59 mg Pyridiniumtrifluoracetat (0.30 mmol, 1.2 Äquiv.) zugegeben, wobei sich eine klare Lösung bildete. Nachdem die Reaktionslösung für 50 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden sie auf 0 °C gekühlt und 0.08 mL einer 5.0 M Lösung aus *tert*-Butylhydroxyperoxid in Decan (0.4 mmol, 2 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 2.5 h gerührt und im Anschluss unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 60:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.20 g (0.21 mmol, 83 %)

eines gelben amorphen Feststoffes. **DC**

*R<sub>F</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v): 0.30;

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

8.28 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.25 (s, 1H, H-8,

1ds), 8.08 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.00 (s, 1H,

H-2, 1ds), 7.69 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.64 (s,

1H, H-C, 1ds), 7.41-7.38 (m, 2H, H-c,

1ds), 7.33 (s, 2H, NH<sub>2</sub>, 1ds), 7.31-7.26 (m,

4H, NH<sub>2</sub>, 1ds, H-c, 1ds), 7.11-7.08 (m, 3H,

H-d, 1ds, H-F, 1ds), 7.07-7.04 (m, 2H, H-

d, 1ds), 6.98 (s, 1H, H-F, 1ds), 6.19 (d,

<sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.15 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub>

= 4.5 Hz, 1H, H-1', 1ds), 5.66-5.60 (m,

2H, H-2', 2ds), 5.42 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.3 Hz,

<sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-G, 1ds), 5.36 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-G, 1ds), 5.30

(d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.3 Hz, 2H, H-G, 1ds), 5.13 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.3 Hz, 1H, H-a, 1ds), 5.09

(dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.3 Hz, 1H, H-a, 1ds), 5.01 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 2H, H-a, 1ds), 4.20

(q, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, 2H, H-3', 2ds), 4.13-4.05 (m, 4H, H-4', 2ds), 3.92-3.86 (m, 8H, H-5', H-5'',

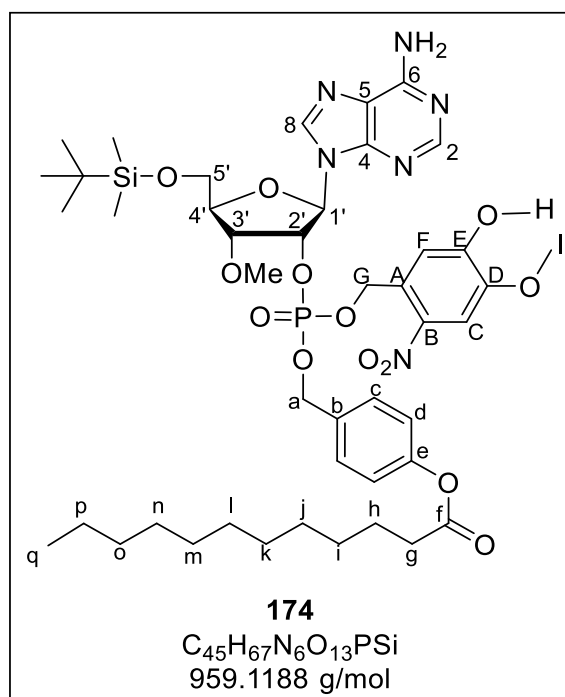
1ds, H-I, 2ds), 3.81 (s, 3H, H-H), 3.78-3.73 (m, 5H, H-5', H-5'', 1ds, H-H, 2ds), 3.41 (s, 3H,

3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.38 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 2.58 (m, 4H, H-g, 2ds), 1.63 (p, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz,

4H, H-h, 2ds), 1.38-1.20 (m, 32H, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 2ds), 0.87-0.82 (m,

24H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 2ds, H-q, 2ds), 0.05-0.01 (m, 12H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 2ds); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm]

(151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.1 (C-f, 2ds), 156.1, 155.0 (C-6, 2ds), 150.5, 150.5 (C-E, 2ds),



149.1, 149.0 (C-e, 2ds), 138.8 (C-D, C-B, 2ds), 138.4 (C-8, 2ds), 133.8 (C-b, 2ds), 129.2, 129.0 (C-c, 2ds), 126.4 (C-A, 2ds), 121.9, 121.8 (C-d, 2ds), 119.0, 119.0 (C-5, 2ds), 110.0, 109.8 (C-F, 2ds), 108.1, 108.1 (C-C, 2ds), 86.0, 85.7 (C-1', 2ds), 81.8, 81.7 (C-4', 2ds), 77.6, 77.6, 77.6 (C-3', 2ds), 76.9, 76.9 (C-2', 2ds), 68.6, 68.5 (C-a, 2ds), 65.9 (C-G, 2ds), 62.0, 61.9 (C-5', 2ds), 57.8 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.1, 56.1, 56.0 (C-H, C-I, 2ds), 33.4 (C-g, 2ds), 31.3, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, 2ds), 25.7, 25.7 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 2ds), 24.3 (C-h, 2ds), 22.1 (C-p, 2ds), 17.9 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 2ds), 13.9 (C-q, 2ds), -5.6, -5.6 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 2ds); <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (243 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): -1.9, -2.0 (s, P-2', 2ds); IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3325, 3152, 2925, 2854, 1758, 1642, 1598, 1579, 1522, 1510, 1464, 1419, 1362, 1328, 1277, 1220, 1202, 1167, 1136, 1117, 1025, 1006, 991, 870, 831, 796, 780, 755, 720, 667, 647, 601, 552, 490; HRMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 959.4346 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 959.4345 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl)-O-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-3'-methoxyadenosin-2'-phosphat (175)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.19 g der TBDMS-geschützten Verbindung **174** (0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) in 8.0 mL abs. Dichlormethan gelöst und anschließend 0.19 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (0.19 g, 1.2 mmol, 6.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Da jedoch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurden weitere 0.29 mL Triethylamin·Trihydrofluorid (0.28 g, 1.8 mmol, 9.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem der Reaktionsansatz für weitere 6 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde Kieselgel zum Reaktionsgemisch gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 40:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.14 g (0.16 mmol, 84 %) eines

gelblichen amorphen Feststoffes. **DC:**

*R<sub>F</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v): 0.22.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

8.37 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.32 (s, 1H, H-8,

1ds), 8.08 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.00 (s, 1H,

H-2, 1ds), 7.69 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.64 (s,

1H, H-C, 1ds), 7.38-7.35 (m, 4H, H-c, 1ds,

NH<sub>2</sub>, 1ds), 7.31 (s, 2H, NH<sub>2</sub>, 1ds), 7.27-7.24

(m, 2H, H-c, 1ds), 7.10-7.08 (m, 2H, H-d,

1ds), 7.06-7.04 (m, 3H, H-d, 1ds, H-F, 1ds),

6.93 (s, 1H, H-F, 1ds), 6.19 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.6 Hz,

1H, H-1', 1ds), 6.15 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, 1H,

H-1', 1ds), 5.62-5.57 (m, 2H, H-2', 2ds),

5.38 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.1 Hz, 1H,

H-G, 1ds), 5.28 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-G, 1ds), 5.22 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.1 Hz,

2H, H-G, 1ds), 5.10 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-a, 1ds), 5.04 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> =

11.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a, 1ds), 4.94 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 2H, H-a, 1ds), 4.17-4.12 (m,

4H, H-3', 2ds, H-4', 2ds), 3.88 (s, 3H, H-H, 1ds), 3.87 (s, 3H, H-H, 1ds), 3.81 (s, 3H, H-I,

1ds), 3.78 (s, 3H, H-I, 1ds), 3.74-3.69 (m, 2H, H-5', 2ds), 3.61-3.55 (m, 2H, H-5'', 2ds), 3.42

(s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.38 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 2.57 (t, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-g, 2ds), 1.63

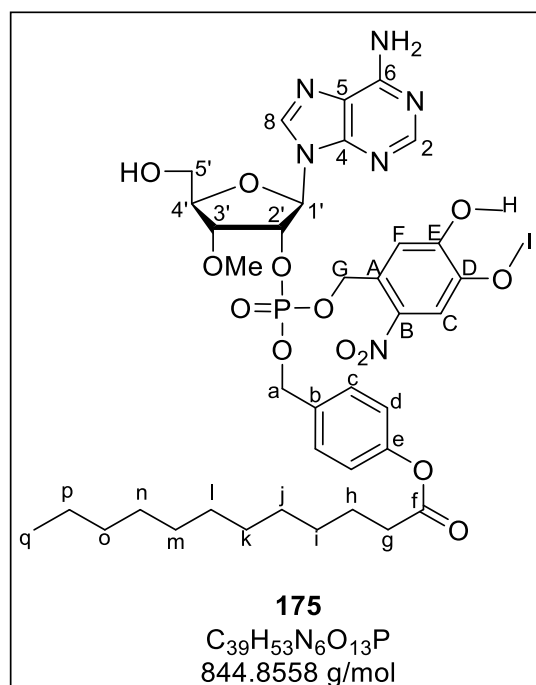
(p, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-h, 2ds), 1.38-1.20 (m, 32H, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p,

2ds), 0.87-0.83 (m, 6H, H-q, 2ds); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.7, 171.7

(C-f, 2ds), 156.2, 156.1 (C-6, 2ds), 153.3, 153.3 (C-E, 2ds), 152.5, 152.4 (C-2, 2ds), 150.5,

150.5 (C-e, 2ds), 148.8, 148.7 (C-4, 2ds), 147.9, 147.8 (C-D, 2ds), 139.4 (C-8, 2ds), 138.6

(C-B, 2ds), 132.8 (C-b, 2ds), 129.1, 129.0 (C-c, 2ds), 126.5 (C-A, 2ds), 121.9, 121.8 (C-d,



2ds), 119.2 (C-5, 2ds), 109.8, 109.5 (C-F, 2ds), 108.1, 108.0 (C-C, 2ds), 86.0 (C-1', 2ds), 83.1, 83.2 (C-4', 2ds), 78.5, 78.5 (C-3', 2ds), 76.9 (C-2', 2ds), 68.6 (d,  $^2J_{HP} = 5.7$  Hz, C-a, 2ds), 68.4 (d,  $^2J_{HP} = 5.6$  Hz, C-a, 2ds), 65.9, 65.9 (C-G, 2ds), 61.0, 61.0 (C-5', 2ds), 57.7, 57.7 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.1, 56.0, 56.0 (C-H, C-I, 2ds), 33.4 (C-g, 2ds), 31.3, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, 2ds), 24.3 (C-h, 2ds), 22.1 (C-p, 2ds), 13.9 (C-q, 2ds); **<sup>31</sup>P-NMR**:  $\delta$  [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -2.0, -2.1 (s, P-2', 2ds); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3331, 3179, 2923, 2853, 1758, 1644, 1598, 1579, 1521, 1464, 1438, 1364, 1327, 1277, 1220, 1201, 1167, 1137, 1099, 1067, 1024, 1008, 939, 920, 869, 831, 796, 754, 723, 646, 633, 603, 560, 536, 487; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 845.3481 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 845.3476 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 2'-(O-(4-Dodecanoyloxybenzyl))-O-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzyl)-3'-methoxyadenosin-2',5'-diphosphat (171)

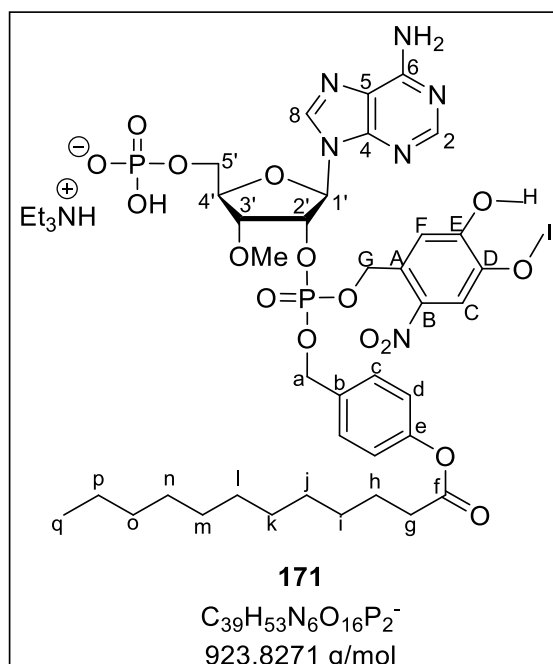
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 78 mg 2'-Monophosphat **156** (0.092 mmol, 1.0 Äquiv.) in 6.0 mL Trimethylphosphat gelöst. Nachdem die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt wurde, wurden 0.26 mL Triethylamin (0.19 g, 1.9 mmol, 20 Äquiv.) zugegeben. Es wurden 0.051 mL Phosphorylchlorid (85 mg, 0.55 mmol, 6.0 Äquiv.) langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 3.5 h bei 0 °C gerührt. Weil jedoch nach 3.5 h kein vollständiger Umsatz beobachtet wurde und die Bildung des Produkts zu stagnieren schien wurden weitere 0.025 mL Phosphorylchlorid (43 mg, 0.28 mmol, 3.0 Äquiv.) langsam zugetropft und der Reaktion für weitere vier Stunden gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zu einer auf 0 °C gekühlte 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer-Lösung gegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.70 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 76 mg (0.076 mmol, 82 %) eines farblosen amorphen Feststoffs.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):

8.41 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.37 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.08 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.00 (s, 1H, H-2, 1ds), 7.68 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.64 (s, 1H, H-C, 1ds), 7.40-7.37 (m, 2H, H-c, 1ds), 7.32-7.24 (m, 6H, H-c, 1ds, NH<sub>2</sub>, 2ds), 7.10-7.07 (m, 3H, H-F, 1ds, H-d, 1ds), 7.06-7.03 (m, 2H, H-d), 6.96 (s, 1H, H-F, 1ds), 6.20 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.16 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, 1H, H-1', 1ds), 5.64-5.57 (m, 2H, H-2', 2ds), 5.39 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-G, 1ds), 5.33

(dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-G, 1ds), 5.27 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, 2H, H-G, 1ds), 5.11 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a, 1ds), 5.08 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-a, 1ds), 5.00-4.96 (m, 2H, H-a, 1ds), 4.26-4.23 (m, 1H, H-4', 1ds), 4.23-4.20 (m, 3H, H-3', 2ds, H-4', 1ds), 4.08-4.02 (m, 2H, H-5', 2ds), 3.96-3.90 (m, 2H, H-5'', 2ds), 3.88-3.85 (m, 6H, H-H, 2ds), 3.81 (s, 3H, H-I, 1ds), 3.77 (s, 3H, H-I, 1ds), 3.42 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.38 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.02 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 5H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-g, 2ds), 1.62 (tt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 4H, H-h, 2ds), 1.38-1.20 (m, 32H, H-i,



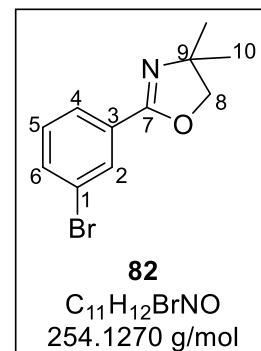
H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 2ds), 1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 7H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.87-0.82 (m, 6H, H-q, 2ds);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 171.7, 171.7 (C-f, 2ds), 156.0, 155.9 (C-6, 2ds), 153.3, 153.3 (C-E, 2ds), 152.8, 152.6 (C-2, 2ds), 150.5, 150.5 (C-e, 2ds), 149.2, 149.1 (C-4, 2ds), 147.9, 147.8 (C-D, 2ds), 138.5 (C-8, C-B, 2ds), 133.2, 133.1 (C-b, 2ds), 129.2, 129.0 (C-c, 2ds), 126.5, 126.4 (C-A, 2ds), 121.9, 121.8 (C-d, 2ds), 118.8, 118.8 (C-5, 2ds), 109.9, 109.6 (C-F, 2ds), 108.1, 108.0 (C-C, 2ds), 85.7, 85.5 (C-1', 2ds), 80.9 (C-4', 2ds), 78.1 (C-3', 2ds), 77.0, 76.8 (C-2', 2ds), 68.6 (d,  $^2J_{\text{HP}} = 5.5$  Hz, C-a, 2ds), 68.4 (d,  $^2J_{\text{HP}} = 5.2$  Hz, C-a, 2ds), 66.0 (C-G, 2ds), 63.8 (C-5', 2ds), 57.8, 57.8 (3'-OCH<sub>3</sub>, 2ds), 56.1, 56.1, 56.0 (C-H, C-I, 2ds), 45.4 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 33.4 (C-g, 2ds), 31.3, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o 2ds), 24.3 (C-h, 2ds), 22.1 (C-p, 2ds), 14.0 (C-q, 2ds), 8.5 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (243 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): -0.3 (s, P-5', 2 ds), -2.0, -2.2 (s, P-2', 2 ds); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2924, 2853, 1759, 1686, 1613, 1580, 1523, 1509, 1465, 1328, 1279, 1221, 1201, 1167, 1136, 1108, 1067, 1026, 1010, 992, 872, 813, 796, 755, 718, 642, 603, 560, 505, 492, 424, 412; **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 923.2999 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 923.3001 [M-H]<sup>-</sup>.

### 7.2.3 Synthese unterschiedlich modifizierter C-glykosidischer Nicotinsäure-nucleosidmonophosphate

#### Darstellung von 2-(3-Bromphenyl)-4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol (82)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 3.0 g 3-Brombenzoesäure **81** (15 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL Thionylchlorid (17 g, 0.14 mol, 9.8 Äquiv.) gelöst. Es wurden 0.10 mL abs. DMF (95 mg, 1.3 mmol, 0.87 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 2 h bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und es wurde dreimal mit Diethylether koevaporiert. Der Rückstand wurde in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst und bei 0 °C langsam zu einer Lösung aus 2.9 mL 2-Amino-2-methyl-1-propanol (2.8 g, 31 mmol, 2.1 Äquiv.) in 20 mL abs. Dichlormethan getropft. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und der Rückstand wurde mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde in 10 mL Thionylchlorid (17 g, 0.14 mol, 9.8 Äquiv.) gelöst und für 15.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Thionylchlorid wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan gelöst und mit 2 M Natriumhydroxid-Lösung neutralisiert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 10:1 v/v).

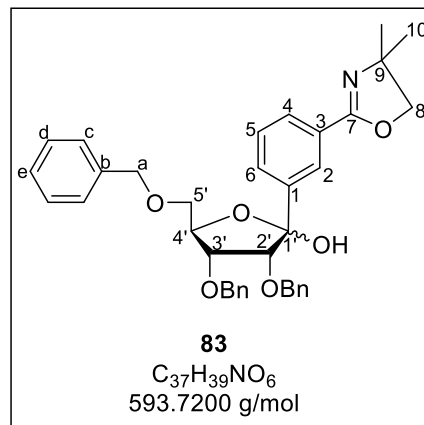
**Ausbeute:** 3.1 g (12 mmol, 81 %) eines gelben Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 10:1 v/v): 0.30;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 7.95-7.94 (m, 1H, H-2), 7.84-7.82 (m, 1H, H-4), 7.76-7.73 (m, 1H, H-6), 7.46-7.42 (m, 1H, H-5), 4.12 (s, 2H, H-8), 1.28 (s, 6H, H-10);  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 159.2 (C-7), 134.1 (C-6), 130.9 (C-5), 130.1 (C-2), 129.9 (C-1), 126.7 (C-4), 121.7 (C-3), 78.7 (C-8), 67.6 (C-9), 28.1 (C-10); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3068, 2966, 2928, 2892, 1649, 1595, 1563, 1478, 1462, 1424, 1412, 1363, 1350, 1305, 1268, 1247, 1211, 1190, 1076, 1058, 990, 966, 921, 896, 875, 818, 793, 728, 712, 674, 654, 615, 538, 496, 418; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 254.0175 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 254.0193 [M+H]<sup>+</sup>.



### Darstellung von 2',3',5'-Tri-O-benzyl-1'-hydroxy-1'-(3-(4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)phenyl)ribofuranose (83)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.25 g 2-(3-Bromphenyl)-4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol **82** (1.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 23 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und die Reaktionslösung auf  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt. Es wurden langsam 1.24 mL *tert*-Butyllithium (1.7 M in Pentan, 2.1 mmol, 2.1 Äquiv.) zugetropft und die Reaktion für eine Stunde bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Nachdem 1.83 mL einer Lanthan(III)-chlorid-bis(lithiumchlorid)-Komplex Lösung (0.6 M in Tetrahydrofuran, 1.1 mmol, 1.1 Äquiv.) zugetropft wurden, wurde die Reaktion weitere 30 min bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus 0.63 g Lacton **50** (1.5 mmol, 1.5 Äquiv.) in 11 mL abs. Tetrahydrofuran bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  zum Reaktionsgemisch getropft. Die Reaktionslösung wurde für 17.5 h gerührt, wobei sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Nachdem zum Beenden der Reaktion eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zur Reaktionslösung gegeben wurde, wurde die wässrige Phase dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v  $\rightarrow$  PE/EE 1:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.40 g (0.68 mmol, 68 %) eines gelben amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE:EE 3:1 v/v): 0.07;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.13-8.11 (m, 1H, H-2, 1ds), 8.08-8.06 (m, 1H, H-2, 1 ds), 7.83-7.80 (m, 1H, H-4, 1ds), 7.79-7.76 (m, 1H, H-4, 1ds), 7.70-7.65 (m, 2H, H-6, 2ds), 7.45 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, 1H, H-5, 1ds), 7.39 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz, 1H, H-5, 1ds), 7.37-7.12 (m, 30H, H-c, H-d, H-e, 2ds), 6.86 (s, 1H, OH-1'), 4.61-4.43 (m, 12H, H-a, 2ds), 4.39 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, 1H, H-4', 1ds), 4.34-4.32 (m, 1H, H-3', 1ds), 4.30-4.26 (m, 1H, H-4', 1ds), 4.14-4.06 (m, 5H, H-8, 2ds, H-3', 1ds), 3.93-3.90 (m, 2H, H-2', 1ds), 3.87 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.7$  Hz, 1H, H-2', 1ds), 3.70-3.66 (m, 2H, H-5', H-5'', 1ds), 3.65-3.60 (m, 2H, H-5', H-5'', 1ds), 1.30-1.26 (m, 12H, H-10, 2ds);  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 160.6 (C-7, 2ds), 143.4, 141.6 (C-1, 2ds), 138.4, 138.3, 138.1, 138.1, 137.9, 137.8 (C-b, 2ds, C-3, 2ds), 128.8, 128.7, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.4, 127.4, 127.3, 127.3 (C-2, C-4, C-6, C-5, C-c, C-d, C-e, 2ds), 125.7 (C-2, 2ds), 105.9, 102.6 (C-1', 2ds), 82.8, 82.2 (C-2', 2ds), 80.3 (C-3', 1ds), 80.2, 80.2 (C-4', 2ds), 78.7 (C-8, 2ds), 76.7 (C-3', 1ds), 72.7, 72.4, 72.4, 72.3, 71.8, 71.6, 71.4, 70.0 (C-a, C-5', C-5'', 2ds), 67.4 (C-9, 2ds), 28.3, 28.2 (C-10, 2ds); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3064, 3031, 2965, 2927, 2866, 1738, 1646, 1604, 1585, 1496, 1454, 1356, 1319, 1285, 1246, 1202, 1072, 1042, 1026, 989, 965, 913, 808, 734, 695, 604, 462; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 594.2850 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 594.2855 [M+H]<sup>+</sup>.



### Darstellung von 2',3',5'-Tri-O-benzyl-1'-(3-(4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)phenyl)ribofuranose (**80**)

Synthese 1 und Synthese 2 erfolgten ausgehend vom Lacton **50**, wobei Verbindung **83** ohne weitere Reinigung während des Reaktionsverlaufes weiter umgesetzt wurde. Bei Synthese 3 wurde Verbindung **83** als Ausgangsverbindung gewählt. Es wurde daher nur der zweite Reaktionsteil aus Synthese 1 und 2 hier durchgeführt.

#### Synthese 1

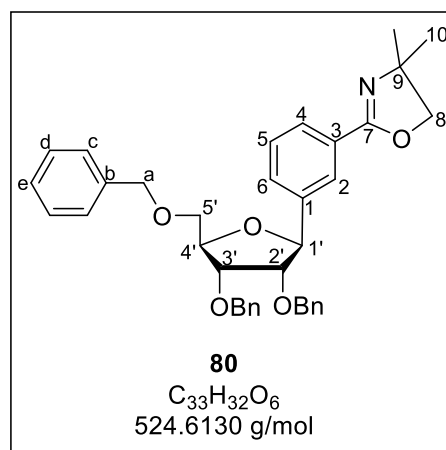
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.50 g 2-(3-Bromphenyl)-4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol **82** (2.0 mmol, 1.5 Äquiv.) in 3.0 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und die Reaktionslösung auf  $-78$  °C gekühlt. Es wurden langsam über 5 min 1.3 mL *n*-Butyllithium (1.6 M in Hexan, 2.1 mmol, 1.6 Äquiv.) zugetropft und die Reaktion für 30 min bei  $-78$  °C gerührt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus 0.54 g Lacton **50** (1.3 mmol, 1.0 Äquiv.) in 3.0 mL abs. Tetrahydrofuran bei  $-78$  °C zum Reaktionsgemisch getropft. Die Reaktionslösung

wurde für 3 h gerührt, wobei sie sich langsam auf  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  erwärmte. Nachdem zum Beenden der Reaktion vorsichtig Wasser zur Reaktion gegeben wurde, wurde die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde unter Stickstoffatmosphäre in 3.0 mL abs. Dichlormethan gelöst und der Reaktionsansatz auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Nachdem 0.62 mL Triethylsilan (0.45 g, 3.9 mmol, 3.0 Äquiv.) zugegeben wurden, wurden 0.41 mL Bortrifluoriddiethyletherat (0.46 g, 3.3 mmol, 2.5 Äquiv.) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 15 h gerührt, wobei sie sich auf Raumtemperatur erwärmte. Im Anschluss wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugegeben, die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde unter vermindertem Druck eingedunstet und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 5:1 v/v, Toluol/EE 8:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.31 g (0.54 mmol, 41 %) eines gelben amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE:EE 5:1 v/v):

0.33;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 7.96-7.94 (m, 1H, H-2), 7.78-7.74 (m, 1H, H-4), 7.55-7.51 (m, 1H, H-6), 7.42-7.11 (m, 16H, H-5, H-c, H-d, H-e), 4.92 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8\text{ Hz}$ , 1H, H-1'), 4.62-4.42 (m, 6H, H-a), 4.27 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9\text{ Hz}$ , 1H, H-4'), 4.11-4.06 (m, 3H, H-3', H-8), 3.89 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0\text{ Hz}$ , 1H, H-2'), 3.70-3.59 (m, 2H, H-5', H-5''), 1.27 (m, 6H, H-10);  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (101 MHz,

$\text{DMSO-}d_6$ ): 160.0 (C-7), 141.1 (C-1), 138.3, 138.2, 137.9 (C-b), 129.0, 129.0, 128.9, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1, 127.8, 127.6, 127.6, 127.5 (C-3, C-6, C-5, C-c, C-d, C-e), 127.0 (C-4), 125.4 (C-2), 83.5 (C-2'), 81.5 (C-4'), 81.2 (C-1'), 78.4 (C-8), 77.2 (C-3'), 72.5, 71.2, 71.0 (C-a), 70.2 (C-5'), 67.4 (C-9), 28.3, 28.2 (C-10); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3063, 3030, 2965, 2892, 2856, 1604, 1586, 1496, 1454, 1353, 1314, 1251, 1194, 1081, 1060, 1027, 992, 270, 909, 805, 734, 718, 695, 645, 615, 571, 464, 422, 383; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 578.2901 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 578.2902 [M+H]<sup>+</sup>.



## Synthese 2

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.25 g 2-(3-Bromphenyl)-4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol **82** (1.0 mmol, 1.1 Äquiv.) in 20 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und die Reaktionslösung auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Es wurden langsam 1.2 mL *tert*-Butyllithium (1.7 M in Pentan, 2.3 mmol, 2.1 Äquiv.) zugetropft und die Reaktion für 50 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Nachdem 1.83 mL

einer Lanthan(III)-chlorid-bis(lithiumchlorid)-Komplex Lösung (0.6 M in Tetrahydrofuran, 1.1 mmol, 1.2 Äquiv.) zugetropft wurden, wurde die Reaktion weitere 30 min bei -78 °C gerührt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus 0.38 g Lacton **50** (0.91 mmol, 1.0 Äquiv.) in 7.0 mL abs. Tetrahydrofuran zum Reaktionsgemisch bei -78 °C getropft. Die Reaktionslösung wurde für 16.5 h gerührt, wobei sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Nachdem zum Beenden der Reaktion eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zur Reaktion gegeben wurde, wurde die wässrige Phase dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde unter Stickstoffatmosphäre in 4.0 mL abs. Dichlormethan gelöst und der Reaktionsansatz auf 0 °C gekühlt. Nachdem 0.44 mL Triethylsilan (0.32 g, 2.7 mmol, 1.0 Äquiv.) zugegeben wurden, wurden 0.29 mL Bortrifluoriddiethyletherat (0.32 g, 2.3 mmol, 2.5 Äquiv.) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 19 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung hinzugegeben, die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 5:1 v/v, PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.30 g (0.51 mmol, 57 %) eines gelben amorphen Feststoffs.

Die analytischen Daten entsprechen den unter der Synthese 1 angegebenen Werten.

### Synthese 3

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.34 g der Verbindung **83** (0.57 mmol, 1.0 Äquiv.) in 2.0 mL abs. Dichlormethan gelöst und der Reaktionsansatz auf 0 °C gekühlt. Nachdem 0.27 mL Triethylsilan (0.20 g, 1.7 mmol, 3.0 Äquiv.) zugegeben wurden, wurden 0.18 mL Bortrifluoriddiethyletherat (0.20 g, 1.4 mmol, 2.5 Äquiv.) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung hinzugegeben, die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.29 g (0.50 mmol, 87 %) eines farblosen amorphen Feststoffs.

Die analytischen Daten entsprechen den unter der Synthese 1 angegebenen Werten.

**Darstellung von 3-(2',3',5'-Tri-O-benzyl-ribofuranosyl)benzoesäure (79)**

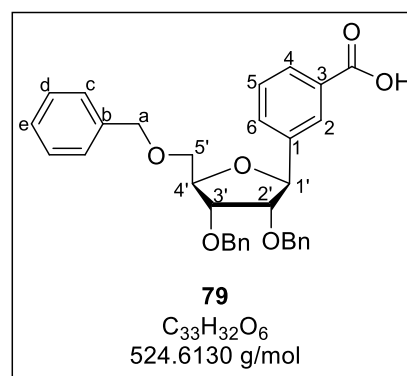
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 2.35 g der benzylgeschützten Verbindung **80** (4.07 mmol, 1.00 Äquiv.) in 12 mL Nitromethan gelöst. Im Anschluss wurden 6 mL Methyljodid zugetropft und die Reaktion für 21 h zum Rückfluss erhitzt. Nachdem dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in einem Gemisch aus 35 mL Methanol und 35 mL einer wässrigen Kaliumhydroxid-Lösung (20 %-ig) suspendiert. Die Suspension wurde für 16 h zum Rückfluss erhitzt. Nachdem die wässrige Lösung durch Zugabe einer 1 M Salzsäure-Lösung auf einen pH von 6 eingestellt wurde, wurde die wässrige Phase dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE + 1 % AcOH).

**Ausbeute:** 2.0 g (3.8 mmol, 95 %) eines orangenen

Öls. **DC** *R<sub>f</sub>*-Wert (EE + 1 % AcOH): 0.48; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 12.5 (bs, 1H, C(O)OH),

8.04-8.02 (m, 1H, H-2), 7.88-7.84 (m, 1H, H-4), 7.63-7.60 (m, 1H, H-6), 7.45-7.41 (m, 1H, H-5), 7.35-7.20 (m, 15H, H-c, H-d, H-e), 4.94 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, 1H, H-1'), 4.59-4.43 (m, 6H, H-a), 4.27 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, 1H, H-4'), 4.08 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-3'), 3.90 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> =

4.9 Hz, 1H, H-2'), 3.69-3.59 (m, 2H, H-5', H-5''); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 167.3 (C(O)OH), 141.1 (C-1), 138.2, 138.2, 137.9 (C-b), 130.5 (C-6), 128.5, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1, 127.8, 127.5, 127.5, 127.4 (C-4, C-5, C-c, C-d, C-e), 126.9 (C-2), 83.5 (C-2'), 81.5 (C-4'), 81.2 (C-1'), 77.3 (C-3'), 72.5, 71.2, 71.0 (C-a), 70.3 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3064, 3030, 2868, 2332, 1753, 1701, 1608, 1590, 1496, 1454, 1410, 1359, 1288, 1208, 1080, 1049, 1027, 912, 819, 734, 695, 666, 624, 605, 538, 479, 461; **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, *m/z*): ber.: 523.2126 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 523.2128 [M-H]<sup>-</sup>.

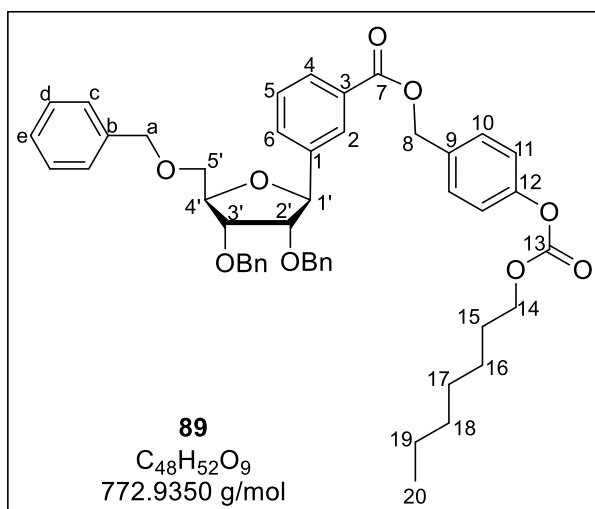


### Darstellung von (Heptyl(4-(hydroxymethyl)phenyl)carbonyl)-3-(2,3,5-tri-O-benzyl-ribofuranosyl)benzoat (89)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.50 g Benzoesäure **79** (0.96 mmol, 1.0 Äquiv.), 0.16 mL Triethylamin (0.12 g, 1.2 mmol, 1.2 Äquiv.) und 0.17 mL 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid (0.26 g, 1.1 mmol, 1.1 Äquiv.) in 16 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch für 30 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden 0.31 g Carbonatmaske **87** (1.2 mmol, 1.2 Äquiv.) und 40 mg DMAP (0.29 mmol, 0.30 Äquiv.) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 3 h zum Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde die Reaktion weitere 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von einer gesättigten Natriumchloridlösung beendet und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 6:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.43 g (0.56 mmol, 58 %)

eines farblosen Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 6:1 v/v): 0.19; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.07-8.04 (m, 1H, H-2), 7.93-7.90 (m, 1H, H-4), 7.68-7.63 (m, 1H, H-6), 7.51-7.43 (m, 3H, H-5, H-10), 7.35-7.17 (m, 17H, H-c, H-d, H-e, H-11), 5.34-5.32 (m, 2H, H-8), 4.95 (d,  $^3J_{HH} = 6.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.61-4.42 (m, 6H, H-a), 4.28 (q,  $^3J_{HH} = 3.8$  Hz, 1H, H-4'), 4.19 (t,  $^3J_{HH} = 6.6$  Hz,



2H, H-14), 4.08 (dd,  $^3J_{HH} = 5.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 3.90 (dd,  $^3J_{HH} = 7.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 4.9$  Hz, 1H, H-2'), 3.68-3.57 (m, 2H, H-5', H-5''), 1.66 (p,  $^3J_{HH} = 6.7$  Hz, 2H, H-15), 1.39-1.21 (m, 8H, H-19, H-18, H-17, H-16), 0.90-0.83 (m, 3H, H-20); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 165.5 (C-7), 153.1 (C-13), 150.5 (C-12), 141.4 (C-1), 138.1, 137.9 (C-b), 133.9 (C-9), 131.2 (C-6), 129.4 (C-3), 129.3, 128.7, 128.5, 128.2, 128.2, 128.1, 127.5, 127.5, 127.3, 127.3 (C-4, C-5, C-10, C-c, C-d, C-e), 126.8 (C-2), 121.3 (C-11), 83.5 (C-2'), 81.5 (C-4'), 81.0 (C-1'), 77.2 (C-3'), 72.4, 71.2, 71.0 (C-a), 70.3 (C-5'), 68.6 (C-14), 65.5 (C-8), 31.1, 28.2 (C-19, C-17), 27.9 (C-15), 25.0, 22.9 (C-18, C-16), 13.9 (C-20); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ]: 3063, 3031, 2926, 2858, 1759, 1718, 1608, 1589, 1510, 1496, 1454, 1360, 1248, 1218, 1196, 1167, 1101, 1078, 1027, 1018, 962, 913, 819, 779, 733, 696, 645, 608, 542, 466; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 795.3504 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 795.3510 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Darstellung von (Heptyl(4-(hydroxymethyl)phenyl)carbonyl)-3-(ribofuranosyl)benzoat (**90**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.38 g der maskierten Verbindung **89** (0.49 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 1.7 mL einer 1 M Bortrichlorid-Lösung in Dichlormethan (1.7 mmol, 3.5 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung für 2 h bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt wurde, wurde diese zu einer auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung getropft. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  20:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.16 g (0.33 mmol, 67 %) eines

farblosen amorphen Feststoffes. **DC**  $R_f$ -Wert

( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  9:1 v/v): 0.34;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm]

(600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.02-8.00 (m, 1H, H-2),

7.92-7.89 (m, 1H, H-4), 7.73-7.70 (m, 1H, H-6),

7.55-7.52 (m, 2H, H-10), 7.51 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9\text{ Hz}$ ,

$^3J_{\text{HH}} = 7.7\text{ Hz}$ , 1H, H-5), 7.29-7.25 (m, 2H, H-11),

5.37 (s, 2H, H-8), 5.06 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1\text{ Hz}$ , 1H,

OH-2'), 4.96 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.8\text{ Hz}$ , 1H, OH-3'), 4.84

(t,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5\text{ Hz}$ , 1H, OH-5'), 4.64 (d,  $^3J_{\text{HH}} =$

7.4 Hz, 1H, H-1'), 4.20 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6\text{ Hz}$ , 2H,

H-14), 3.90 (td,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3\text{ Hz}$ , 1H, H-3'),

3.85 (td,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3\text{ Hz}$ ,

1H, H-4'), 3.68 (td,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3\text{ Hz}$ , 1H, H-2'),

3.59-3.52 (m, 2H, H-5', H-5''),

1.67 (m, 2H, H-15), 1.38-1.22 (m, 8H, H-16, H-17, H-18, H-19),

0.89-0.85 (m, 3H, H-20);  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):

166.1 (C-7), 165.7 (C-3), 153.5 (C-13), 150.9 (C-

12), 142.8 (C-1), 134.5 (C-9), 131.5 (C-6), 129.7 (C-10),

129.1 (C-5), 128.7 (C-4), 127.3 (C-

2), 121.9 (C-11), 85.9 (C-4'), 82.7 (C-1'), 78.1 (C-2'),

71.9 (C-3'), 69.1 (C-14), 66.0 (C-8),

62.4 (C-5'), 31.6 (C-19), 28.7 (C-17), 28.4 (C-15),

25.6 (C-16), 22.4 (C-18), 14.3 (C-20); **IR**

(ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3355, 2955, 2927, 2858, 1760, 1718,

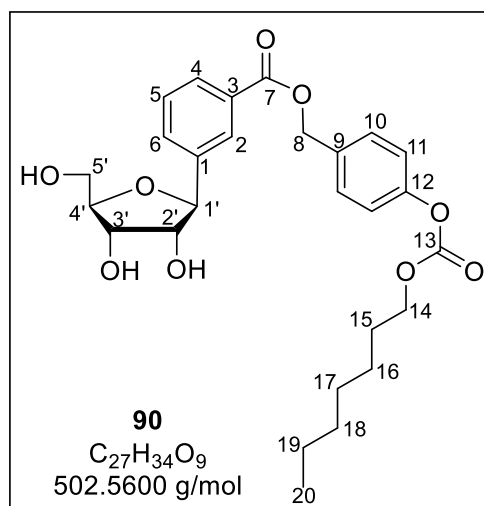
1607, 1509, 1444, 1393, 1373, 1330,

1253, 1217, 1191, 1164, 1106, 1098, 1069, 1046,

1027, 1011, 1001, 963, 905, 889, 855,

816, 778, 747, 704, 686, 660, 606, 568, 547,

505, 483, 457; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 525.2095 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 525.2091 [M+Na]<sup>+</sup>.

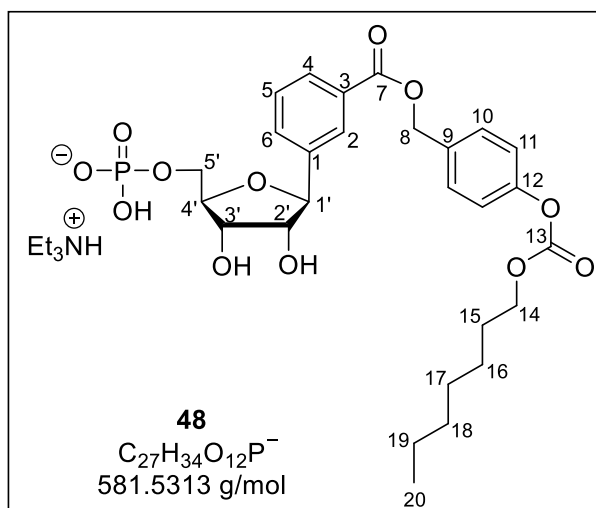


### Darstellung von (Heptyl(4-(hydroxymethyl)phenyl)carbonyl)-3-(5'-phosphoryl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)benzoat (**48**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 153 mg der maskierten Benzoesäure **90** (0.31 mmol, 1.0 Äquiv.) in 6.5 mL Trimethylphosphat (TMP) gelöst. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und 0.17 mL Phosphorylchlorid ( $\text{POCl}_3$ ) (1.8 mmol, 6.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung für 24 h gerührt wurde, wurde diese zu einem auf 0 °C gekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (TEAB) gegeben. Es wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ -Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.86 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 132 mg (198  $\mu\text{mol}$ , 65 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 8.08-8.01 (m, 1H, H-2), 7.97-7.94 (m, 1H, H-4), 7.83-7.80 (m, 1H, H-6), 7.55-7.50 (m, 2H, H-10), 7.50-7.45 (m, 1H, H-5), 7.23-7.19 (m, 2H, H-11), 5.38 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 2H, H-8), 4.75 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 1H, H-1'), 4.23 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, 2H, H-14), 4.19 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, 1H, H-3'), 4.16-4.12 (m, 1H, H-4'), 4.10-4.02 (m, 2H, H-5', H-5''), 3.92 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz, 1H, H-2'), 3.17 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 1.75-1.69 (m, 2H, H-15), 1.45-1.31 (m, 8H, H-16, H-17, H-18, H-19), 1.17 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 9H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.94-0.88 (m, 3H, H-20);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (126 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 168.2 (C-7), 155.6 (C-13), 153.0 (C-12), 142.9 (C-1), 135.6 (C-9), 132.3 (C-6), 131.1 (C-3), 130.6 (C-10), 129.8 (C-4), 129.7 (C-5), 128.6 (C-2), 122.4 (C-11), 85.6 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 8.8$  Hz, C-4'), 84.4 (C-1'), 79.0 (C-2'), 73.3 (C-3'), 70.0 (C-14), 67.1 (C-8), 66.5 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 5.8$  Hz, C-5'), 47.8 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 32.9 (C-18), 30.0, 29.7, 26.7, 23.6 (C-15, C-16, C-17), 23.6 (C-19), 14.4 (C-20), 9.1 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (202 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 2.2; **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3253, 2929, 2857, 2489, 1759, 1716, 1609, 1510, 1454, 1391, 1246, 1217, 1193, 1166, 1101, 1040, 1018, 922, 817, 779, 752, 693, 503; **HRMS (ESI $^-$ , m/z):** ber.: 581.1793 [M-H] $^-$ ; gef.: 581.1797 [M-H] $^-$ .

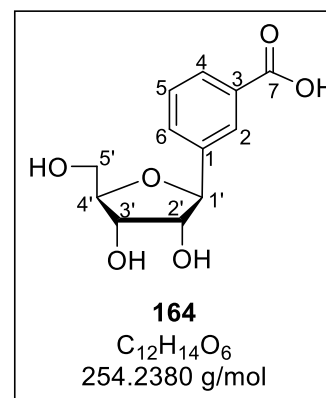


**Darstellung von 3-(Ribofuranosyl)benzoesäure (164)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.10 g der maskierten Verbindung **90** (0.19 mmol, 1.0 Äquiv.) in 7 mL abs. Dichlormethan gelöst. Nachdem die Reaktionslösung auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt wurde, wurden 0.70 mL einer 1 M Bortrichlorid-Lösung (0.67 mmol, 3.5 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 h gerührt, wobei sich die Reaktion langsam erwärmte. Zum Beenden der Reaktion wurde diese mit Wasser versetzt. Unter vermindertem Druck wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ -Gradient).

**Ausbeute:** 43 mg (0.17 mmol, 88 %) eines farblosen amorphen Feststoffes. **DC**  $R_f$ -Wert ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  10:1 v/v): 0.10;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 8.09-8.07 (m, 1H, H-2), 8.03-8.00 (m, 1H, H-4), 7.75-7.71 (m, 1H, H-6), 7.59-7.56 (m, 1H, H-5), 4.87 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3\text{ Hz}$ , 1H, H-1'), 4.21 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9\text{ Hz}$ , 1H, H-3'), 4.13 (dt,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 3.8\text{ Hz}$ , 1H, H-4'), 4.09 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4\text{ Hz}$ , 1H, H-2'), 3.88 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.4\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7\text{ Hz}$ , 1H, H-5'), 3.82 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.4\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3\text{ Hz}$ , 1H, H-5'');

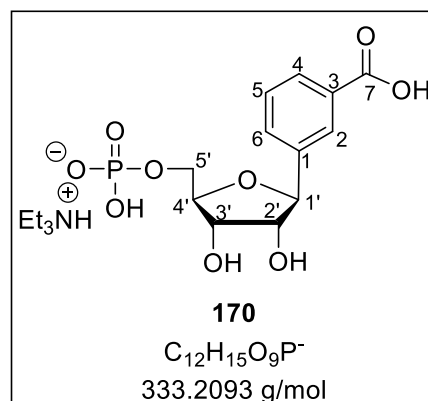
**$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 170.6 (C-7), 139.3 (C-1), 131.6 (C-6), 130.5 (C-3), 129.6 (C-4), 129.0 (C-5), 127.3 (C-2), 84.7 (C-4'), 82.9 (C-1'), 78.0 (C-2'), 71.1 (C-3'), 61.7 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3362, 2920, 2671, 1676, 1608, 1588, 1454, 1417, 1304, 1285, 1260, 1199, 1110, 1070, 1039, 1030, 1013, 973, 933, 887, 854, 819, 804, 748, 711, 684, 667, 655, 637, 617, 559, 538, 513, 472; **HRMS** (ESI $^-$ , m/z): ber.: 253.0718 [M-H] $^-$ , gef.: 253.0714 [M-H] $^-$ .

**Darstellung von 3-(5'-Phosphoryl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)benzoesäure (170)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 50 mg des Benzoesäure-Derivats **164** (0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) in 9.0 mL Trimethylphosphat (TMP) gelöst. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 0.22 mL Phosphorylchlorid ( $\text{POCl}_3$ ) (1.4 mmol, 12 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung für 6 h gerührt wurde, wurde diese für 6 h bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Danach wurden weitere 0.22 mL  $\text{POCl}_3$  (1.4 mmol, 12 Äquiv.) zugetropft und die Reaktion für 5 h bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung zu einem auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (TEAB) gegeben. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Es wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ -Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 1 Äquivalent Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil

durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 51 mg (0.12 mmol, 60 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 8.08-8.07 (m, 1H, H-2), 8.03-8.01 (m, 1H, H-4), 7.82-7.79 (m, 1H, H-6), 7.61-7.58 (m, 1H, H-5), 4.88 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 1H, H-1'), 4.31 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, 1H, H-3'), 4.28-4.25 (m, 1H, H-4'), 4.17 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, 1H, H-2'), 4.14-4.07 (m, 2H, H-5', H-5''), 3.20 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 1.28 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 9H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 170.4 (C-7), 139.2 (C-1), 131.7 (C-6), 130.1 (C-3), 129.8 (C-4), 129.2 (C-5), 127.8 (C-2), 83.6 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 8.9$  Hz, C-4'), 83.9 (C-1'), 77.0 (C-2'), 71.6 (C-3'), 65.2 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 5.5$  Hz, C-5'), 46.6 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 8.19 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (243 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 0.3; **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3362, 2920, 2671, 1676, 1608, 1588, 1454, 1417, 1304, 1285, 1260, 1199, 1110, 1070, 1039, 1030, 1013, 973, 933, 887, 854, 819, 804, 748, 711, 684, 667, 655, 637, 617, 559, 538, 513, 472; **HRMS** (ESI $^-$ , m/z): ber.: 333.0381 [M-H] $^-$ , gef.: 333.0381 [M-H] $^-$ .

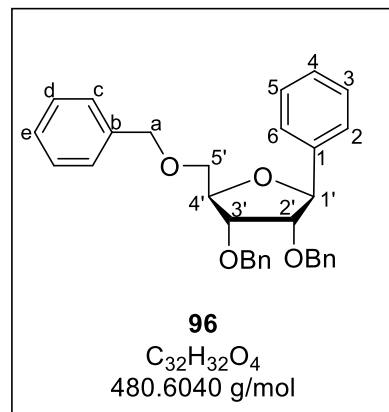


### Darstellung von 2,3,5-Tri-O-benzyl-1-desoxy-1-phenyl- $\beta$ -D-ribofuranose (96)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.47 mL Brombenzol **95** (0.71 g, 4.5 mmol, 1.5 Äquiv.) in 10 mL abs. THF gelöst und die Reaktionslösung auf  $-78$  °C gekühlt. Es wurden 3.0 mL einer 1.6 M n-Butyllithium-Lösung in THF (4.8 mmol, 1.6 Äquiv.) langsam zugetropft. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung für 30 min bei  $-78$  °C gerührt. Nachdem eine Lösung aus 1.3 g Lacton **50** (3.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in 8.0 mL abs. THF langsam zugetropft wurde, wurde das Reaktionsgemisch für eine Stunde bei  $-78$  °C gerührt. Es wurden weitere 2 h gerührt, wobei sich die Reaktionslösung auf  $-30$  °C erwärmte. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von dest. Wasser beendet und die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf  $-78$  °C gekühlt. Es wurden 1.4 mL Triethylsilan (1.0 g, 9.0 mmol, 3.0 Äquiv.) und 0.95 mL Bortrifluorid-diethyletherat (1.1 g, 7.5 mmol, 2.5 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 16 h gerührt, wobei sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Die Reaktion wurde durch die Zugabe einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung beendet. Im Anschluss wurde die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat

getrocknet. Unter vermindertem Druck wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 20:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.82 g (1.7 mmol, 57 %) eines farblosen amorphen Feststoffs. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 20:1 v/v): 0.12; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.34-7.31 (m, 2H, H-2), 7.29-7.09 (m, 18H, H-4, H-3, H-c, H-d, H-e), 4.96 (d,  $^3J_{HH}$  = 6.6 Hz, 1H, H-1'), 4.57-4.37 (m, 6H, H-a), 4.28 (q,  $^3J_{HH}$  = 4.1 Hz, 1H, H-4'), 3.94 (dd,  $^3J_{HH}$  = 5.2 Hz,  $^3J_{HH}$  = 4.1 Hz, 1H, H-3'), 3.74 (dd,  $^3J_{HH}$  = 6.6 Hz,  $^3J_{HH}$  = 5.2 Hz, 1H, H-2'), 3.63-3.54 (m, 2H, H-5', H-5'');



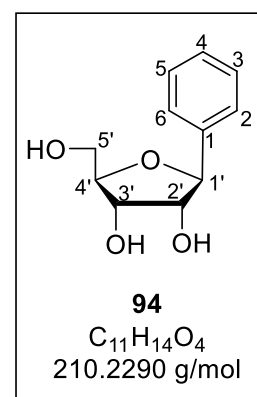
**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 140.1 (C-1), 137.9, 137.6 (C-b), 137.5 (C-b), 128.1, 128.0, 128.0, 127.8, 127.5, 127.4, 127.4, 127.3, 127.3 (C-3, C-4, C-5, C-c, C-d, C-e), 126.0 (C-2, C-6), 83.4 (C-2'), 82.3 (C-1'), 81.4 (C-4'), 77.2 (C-3'), 73.2, 71.8, 71.6 (C-a), 70.1 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3087, 3063, 3029, 2867, 2787, 1605, 1495, 1453, 1408, 1366, 1310, 1287, 1263, 1212, 1143, 1105, 1070, 1051, 1010, 961, 904, 846, 817, 805, 744, 730, 694, 649, 612, 582, 549, 521, 473; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 503.2193 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 503.2190 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 1-Desoxy-1-phenyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**94**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.26 g der benzylgeschützten Verbindung **96** (0.54 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf -78 °C gekühlt und 1.6 mL einer 1 M Bortrichlorid-Lösung in Dichlormethan (1.6 mmol, 3.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 4 h gerührt, wobei sie sich langsam auf -20 °C erwärmte. Die Reaktion wurde durch Zugabe eines Lösungsmittelgemisches aus Dichlormethan und Methanol (1:1) beendet. Das Rohprodukt wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und im Anschluss säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.11 g (0.52 mmol, 96 %) eines farblosen Feststoffes.

**DC**  $R_f$ -Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.24; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.41-7.37 (m, 2H, H-2), 7.34-7.30 (m, 2H, H-3), 7.28-7.23 (m, 1H, H-4), 4.55 (d,  $^3J_{HH}$  = 7.1 Hz, 1H, H-1'), 3.88 (dd,  $^3J_{HH}$  = 5.4 Hz,  $^3J_{HH}$  = 3.6 Hz, 1H, H-3'), 3.81 (q,  $^3J_{HH}$  = 4.3 Hz, 1H, H-4'), 3.68 (dd,  $^3J_{HH}$  = 7.1 Hz,  $^3J_{HH}$  = 5.4 Hz, 1H, H-2'), 3.59-3.51 (m, 2H, H-5', H-5''); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 141.4 (C-1), 127.9 (C-3), 127.2 (C-4), 126.2 (C-2), 85.0 (C-4'), 83.0 (C-1'), 77.6 (C-2'), 71.4 (C-3'), 62.1 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3201,



1124, 1072, 1055, 1013, 855, 745, 699, 587, 531; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 233.0784 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 233.0783 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Darstellung von 1-Desoxy-1-phenyl-β-D-ribofuranose-5'-monophosphat (97)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.15 g 1-Phenylribose **94** (0.69 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL TMP gelöst. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und 0.63 mL Phosphorylchlorid (POCl<sub>3</sub>) (1.1 g, 6.9 mmol, 10 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung für 20 h gerührt wurde, wurde diese zu einem auf 0 °C gekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (TEAB) gegeben. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Es wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 2 Äquivalent Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde.

**Ausbeute:** 0.26 g (0.53 mmol, 76 %) eines farblosen

amorphen Feststoffs. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O):

7.56-7.42 (m, 5H, H-2, H-3, H-4), 4.82 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, 1H,

H-1'), 4.32 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-3'), 4.25-

4.18 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.05-4.01 (m, 2H, H-5', H-5''), 3.20

(q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 12H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.29 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz,

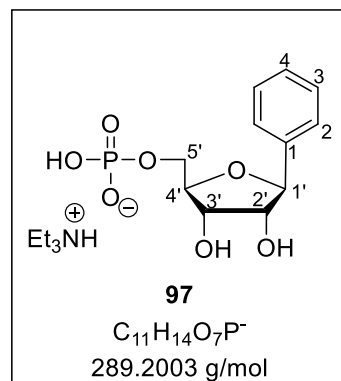
18H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O):

138.6 (C-1), 128.8 (C-3), 128.7 (C-4), 126.9 (C-2), 83.7 (d,

<sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.7 Hz, C-4'), 83.6 (C-1'), 76.8 (C-2'), 71.7 (C-3'), 64.6

(d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 4.6 Hz, C-5'), 46.7 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 8.2 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz,

D<sub>2</sub>O): 2.4; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 313.0448 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 313.0442 [M+Na]<sup>+</sup>.

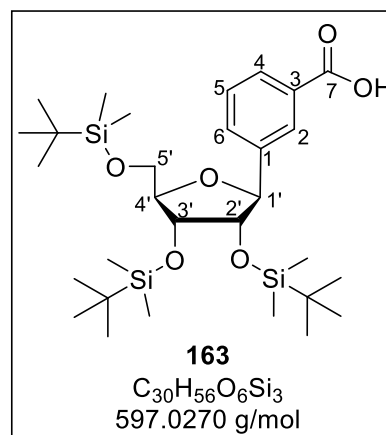


**Darstellung von 3-(2',3',5'-Tri-O-butyldimethylsilylribofuranosyl)benzoesäure (163)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.11 g der Carbonsäure **164** (0.44 mmol, 1.0 Äquiv.) in 12 mL abs. Dichlormethan gelöst. Es wurden 1.7 g TBDMSCI (11 mmol, 25 Äquiv.) und 0.60 g Imidazol (8.8 mmol, 20 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 20 h bei 60 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und im Anschluss säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 400:1 v/v, 3 % AcOH).

**Ausbeute:** 0.25 g (0.41 mmol, 94 %) eines leicht gelben amorphen Feststoffes. **DC** R<sub>F</sub>-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 400:1 v/v, 3 % AcOH): 0.43; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.96-7.95 (m, 1H, H-2), 7.97-7.85 (m, 1H, H-4), 7.62-7.60 (m, 1H, H-6), 7.46-7.42 (m, 1H, H-5), 4.66 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, 1H, H-1'), 4.10 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.1 Hz, 1H, H-3'), 3.97-3.95 (m, 1H, H-4'), 3.87 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, 1H, H-2'), 3.80-3.77 (m, 2H, H-5', H-5''), 0.92 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.74 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.12

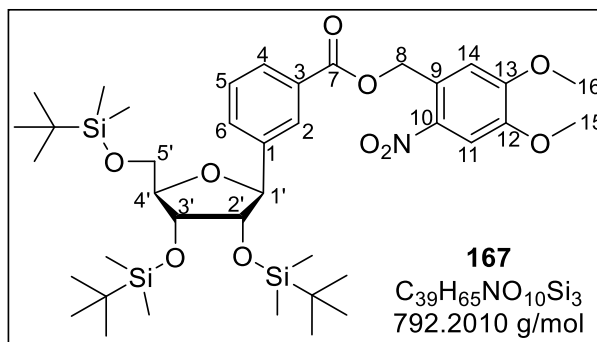
(s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.11-0.90 (m, 6H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), -0.18 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), -0.56 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 167.2 (C-7), 140.7 (C-1), 131.3 (C-6), 130.7 (C-3), 128.8 (C-4), 128.2 (C-5), 127.7 (C-2), 86.1 (C-4'), 81.5 (C-1'), 79.2 (C-2'), 74.1 (C-3'), 63.4 (C-5'), 25.8, 25.7, 25.6 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 17.9, 17.8, 17.5 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -4.5, -4.7, -4.7, -5.6, -5.7, -5.8 (SiCH<sub>3</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2952, 2928, 2896, 2857, 1691, 1590, 1471, 1462, 1411, 1388, 1361, 1291, 1252, 1212, 1151, 1108, 1078, 1053, 1005, 964, 939, 927, 877, 831, 773, 757, 707, 669, 645, 617, 596, 555, 523, 499; **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 595.3312 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 595.3314 [M-H]<sup>-</sup>.


**Darstellung von (4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-3-(2',3',5'-tri-O-butyldimethylsilylribofuranosyl)benzoat (167)**
Synthese 1

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.10 g Benzoesäure **163** (0.17 mmol, 1.0 Äquiv.), 0.03 mL Triethylamin (20 mg, 0.20 mmol, 1.2 Äquiv.) und 0.03 mL 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid (45 mg, 0.18 mmol, 1.1 Äquiv.) in 12 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch für 30 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurden 43 mg Nitroveratrylalkohol **165** (0.20 mmol, 1.2 Äquiv.) und 6.9 mg DMAP (50 μmol, 0.30 Äquiv.) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe einer gesättigten Natriumchloridlösung beendet und die wässrige

Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie gereinigt (PE/EE 3:1 v/v).

**Ausbeute:** 70 mg (89  $\mu\text{mol}$ , 53 %) eines farblosen Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 9:1 v/v): 0.23;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.13-8.10 (m, 1H, H-2), 8.04-7.99 (m, 1H, H-4), 7.76 (s, 1H, H-11), 7.75-7.71 (m, 1H, H-6), 7.46-7.39 (m, 1H, H-5), 7.09 (s, 1H, H-14), 5.78 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, 2H,



H-8), 4.82 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz, 1H, H-1'), 4.13 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz, 1H, H-3'), 4.05 (td,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz, 1H, H-4'), 3.97 (s, 3H, H-15), 3.91 (s, 3H, H-16), 3.86-3.83 (m, 1H, H-2'), 3.79 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, 2H, H-5', H-5''), 0.94 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.92 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.77 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.77 (s, 12H,  $\text{SiCH}_3$ ), -0.14 (s, 3H,  $\text{SiCH}_3$ ), -0.52 (s, 3H,  $\text{SiCH}_3$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 166.0 (C-7), 153.8 (C-13), 148.3 (C-12), 141.6 (C-1), 139.9 (C-10), 132.0 (C-6), 129.5 (C-3), 129.3 (C-4), 128.6 (C-5), 128.4 (C-2), 127.9 (C-9), 110.0 (C-14), 108.4 (C-11), 86.8 (C-4'), 82.8 (C-1'), 79.7 (C-2'), 74.4 (C-3'), 64.0 (C-5'), 63.6 (C-8), 56.6 (C-15), 56.5 (C-16), 26.1, 26.0, 25.9 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 18.5, 18.4, 18.2, 18.0 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), -4.2, -4.3, -4.4 ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2953, 2927, 2855, 1729, 1582, 1523, 1463, 1380, 1361, 1330, 1277, 1253, 1221, 1197, 1150, 1105, 1079, 1066, 1004, 966, 939, 911, 871, 832, 813, 774, 753, 753, 712, 688, 671, 602; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 814.3808 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>, gef.: 814.3808 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

## Synthese 2

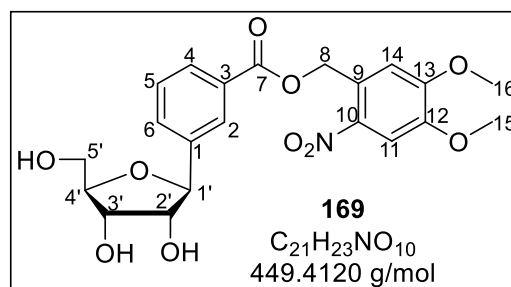
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 70 mg der maskierten Verbindung **163** (0.12 mmol, 1.0 Äquiv.) in 5 mL abs. Dichlormethan gelöst. Es wurden 7.2 mg DMAP (59  $\mu\text{mol}$ , 0.50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt. Nachdem 38 mg Photomaske **165** (0.18 mmol, 1.5 Äquiv.) und 34 mg 1-Ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (0.18 mmol, 1.5 Äquiv.) bei 0 °C zugegeben wurden, wurde die Lösung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit einer 5 %-igen wässrigen Zitronensäurelösung und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und im Anschluss säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 6:1 v/v).

**Ausbeute:** 93 mg (0.12 mmol, quant.) eines leicht gelblichen Öls. Die analytischen Daten entsprechen den unter der Synthese 1 angegebenen Werten.

**Darstellung von (4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-3-( $\beta$ -D-ribofuranosyl)benzoat (**169**)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 63 mg der maskierten Verbindung **167** (80  $\mu$ mol, 1.0 Äquiv.) in 2 mL abs. Dichlormethan gelöst. Nachdem 0.08 mL Triethylammonium-Trihydrofluorid (0.8 g, 0.5 mmol, 6.0 Äquiv.) langsam zugetropft wurden, wurde die Reaktionslösung für 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte dünnschichtchromatographisch kein vollständiger Umsatz beobachtet werden, weshalb weitere 0.17 mL Triethylammonium-Trihydrofluorid (0.16 g, 0.96 mmol, 12 Äquiv.) langsam zugegeben wurden. Die Reaktionslösung wurde weitere 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde die Lösung mit Kieselgel versetzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 30:1 v/v).

**Ausbeute:** 31 mg (70  $\mu$ mol, 87 %) eines farblosen Feststoffes. **DC** *R<sub>f</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.43; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.01-8.00 (m, 1H, H-2), 7.89-7.87 (m, 1H, H-4), 7.75-7.71 (m, 2H, H-6, H-11), 7.53-7.50 (m, 1H, H-5), 7.35 (s, 1H, H-14), 5.64-5.63 (m, 2H, H-8), 5.04



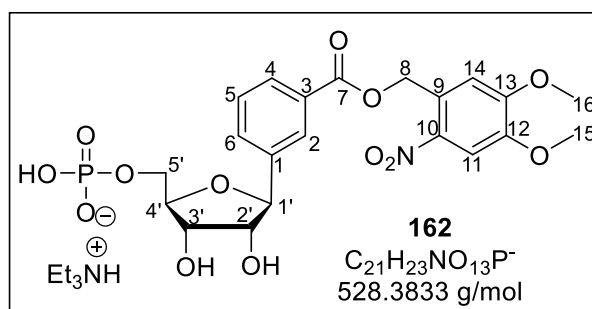
(d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, 1H, OH-2'), 4.96 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 1H, OH-3'), 4.83 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, 1H, OH-5'), 4.62 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 1H, H-1'), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.90-3.88 (m, 4H, OCH<sub>3</sub>, H-3'), 3.86-3.83 (m, 1H, H-4'), 3.68-3.64 (m, 1H, H-2'), 3.56-3.52 (m, 2H, H-5', H-5''); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 165.5 (C-7), 153.2, 148.1 (C-12, C-13), 142.4 (C-1), 140.0 (C-10), 131.2 (C-6), 129.2 (C-3), 128.7 (C-5), 128.2 (C-4), 126.8 (C-2), 125.8 (C-9), 111.9 (C-14), 108.4 (C-11), 85.5 (C-4'), 82.2 (C-1'), 77.6 (C-2'), 71.4 (C-3'), 63.5 (C-8), 62.0 (C-5'), 56.3, 56.2 (OCH<sub>3</sub>); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3554, 3498, 3368, 3112, 2935, 2860, 1719, 1583, 1522, 1504, 1440, 1385, 1333, 1278, 1219, 1194, 1170, 1111, 1090, 1066, 1029, 982, 932, 903, 885, 873, 845, 816, 798, 753, 695, 679, 656, 629, 606, 538, 505; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 472.1214 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 472.1207 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Darstellung von (4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-3-(5'-phosphoryl-β-D-ribofuranosyl)-benzoat (162)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 25 mg der maskierten Verbindung **169** (0.045 mmol, 1.0 Äquiv.) in 3.0 mL Trimethylphosphat gelöst. Nachdem die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt wurde, wurden 0.02 mL Triethylamin (0.01 g, 0.1 mmol, 2 Äquiv.) zugegeben und 0.05 mL Phosphorylchlorid (POCl<sub>3</sub>) (0.08 g, 0.5 mmol, 10 Äquiv.) langsam zugetropft. Da jedoch nach 6 h kein vollständiger Umsatz des Eduktes beobachtet werden konnte, wurden weitere 0.03 mL Phosphoroxychlorid (0.05 g, 0.3 mmol, 5 Äquiv.) zugegeben. Nachdem die Reaktion für weitere 1.5 h bei 0 °C gerührt wurde, wurde diese zu einem auf 0 °C gekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (TEAB) gegeben. Es wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.94 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 25 mg (0.04 mmol, 88 %)

eines gelben Feststoffes. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.97-7.95 (m, 1H, H-2), 7.89-7.86 (m, 1H, H-4), 7.75-7.71 (m, 2H, H-6, H-11), 7.54-7.48 (m, 1H, H-5), 7.34 (s, 1H, H-14), 5.63 (m, 2H, H-8), 4.63 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub>



= 7.2 Hz, 1H, H-1'), 3.99-3.93 (m, 3H, H-3', H-4', 2'-OH), 3.91 (s, 3H, H-16), 3.89 (m, 3H, H-15), 3.85-3.80 (m, 3H, H-5', H-5'', 3'-OH), 3.70 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 1H, H-2'), 2.95 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, 5H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.14 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, 8H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 165.4 (C-7), 153.1 (C-13), 148.2 (C-12), 142.2 (C-1), 140.4 (C-10), 131.0 (C-6), 129.0 (C-3), 128.8 (C-5), 128.2 (C-4), 126.8 (C-2), 125.9 (C-9), 111.8 (C-14), 108.3 (C-11), 83.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.6 Hz, C-4'), 82.3 (C-1'), 77.5 (C-2'), 71.6 (C-3'), 64.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, C-5'), 63.4 (C-8), 56.3, 56.1 (C-15, C-16), 45.3 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 8.7 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 0.2; **IR (ATR):** ν̄ [cm<sup>-1</sup>]: 2924, 2851, 1718, 1580, 1520, 1462, 1327, 1276, 1220, 1195, 1167, 1152, 1106, 1063, 981, 869, 816, 795, 752, 689, 638, 554, 503, 476; **HRMS (ESI<sup>-</sup>, m/z):** ber.: 528.0913 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 528.0912 [M-H]<sup>-</sup>.

## 7.2.4 Synthese unterschiedlich modifizierter C-glykosidischer Nicotinamid-nucleosidmonophosphate

### Darstellung von *tert*-Butyl-*N*-(4-(((heptyloxy)carbonyl)oxy)benzyl)carbamate (**130**)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.86 g 4-Hydroxybenzylamin **129** (7.0 mmol, 1.1 Äquiv.) in 1.2 mL abs. Pyridin gelöst und 5.8 mL abs. DMF zugetropft. Es wurden 1.7 mL Di-*tert*-butyldicarbonat (1.7 g, 7.7 mmol, 1.2 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Reaktionslösung wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 35 mL Wasser und 35 mL Ethylacetat beendet. Die organische Phase wurde einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde unter Stickstoffatmosphäre in 46 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit 0.97 mL Triethylamin (0.71 g, 7.0 mmol, 1.1 Äquiv.) versetzt. Eine Lösung aus 1.2 mL Heptylchloroformat (1.1 g, 6.3 mmol, 1.0 Äquiv.) in 23 mL abs. Dichlormethan wurde bei 0 °C zum Reaktionsgemisch getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h gerührt und erwärmte sich dabei auf Raumtemperatur. Die Lösung wurde einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 8:1 v/v).

**Ausbeute:** 2.0 g (5.6 mmol, 88 %) eines farblosen

Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE 8:1 v/v): 0.29; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.32-7.23 (m, 2H, H-6),

7.14-7.11 (m, 2H, H-7), 4.84 (s, 1H, NH), 4.31-4.28 (m, 2H, H-4), 4.24 (t, <sup>3</sup> $J_{HH}$  = 6.7 Hz, 2H, H-10), 1.74

(dt, <sup>2</sup> $J_{HH}$  = 14.7 Hz, <sup>3</sup> $J_{HH}$  = 6.8 Hz, 2H, H-11), 1.45 (s, 9H, H-1), 1.44-1.26 (m, 8H, H-12, H-13, H-14, H-15),

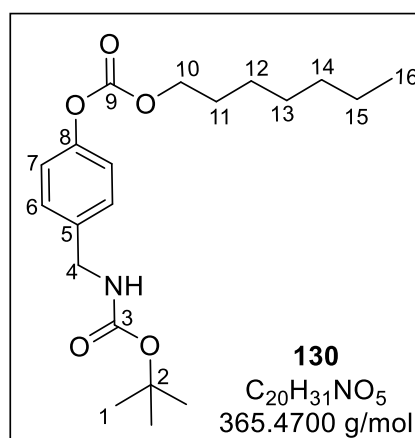
0.89 (t, <sup>3</sup> $J_{HH}$  = 6.8 Hz, 3H, H-16); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 156.0 (C-3), 153.9 (C-9), 150.4

(C-8), 136.8 (C-5), 128.8 (C-6), 121.3 (C-7), 83.5

(C-2), 69.1 (C-10), 44.2 (C-4), 31.8 (C-14, C-15), 29.0 (C-13), 28.7 (C-11), 28.5 (C-1), 25.7

(C-12), 22.7 (C-14, C-15), 14.2 (C-16); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3360, 2959, 2930, 2859, 1759, 1714, 1508, 1456, 1391, 1366, 1242, 1215, 1149, 1071, 1046, 1017, 948, 931, 895, 865,

847, 780, 724, 606, 552, 503, 462; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 388.2094 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 388.2091 [M+Na]<sup>+</sup>.



**Darstellung von 4-(Aminomethyl)phenylheptylcarbonathydrochlorid (128)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurde 2.0 g *tert*-Butyl-(4-(((heptyloxy)carbonyl)oxy)benzyl)-carbammat **130** (5.5 mmol, 1.0 Äquiv.) in 33 mL abs. Ethanol gelöst. Nachdem 8.0 mL Acetylchlorid (8.8 g, 1.1 mol, 20 Äquiv.) bei 0 °C langsam zugetropft wurden, wurde das Reaktionsgemisch für 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatischer Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient) gereinigt.

**Ausbeute:** 0.76 g (2.5 mmol, 46 %) eines farblosen

Feststoffes. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

8.52 (s, 3H, NH<sub>3</sub>), 7.62-7.49 (m, 2H, H-3), 7.34-7.19

(m, 2H, H-4), 4.19 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, 2H, H-7), 4.02 (s,

2H, H-1), 1.72-1.58 (m, 2H, H-8), 1.42-1.19 (m, 8H,

H-9, H-10, H-11, H-12), 0.95-0.81 (m, 3H, H-13);

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 153.1 (C-6),

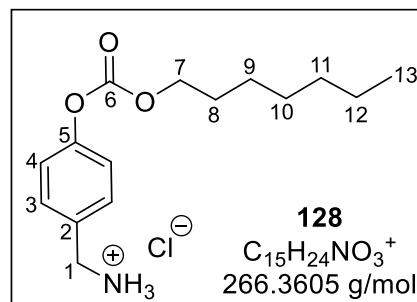
150.7 (C-5), 132.0 (C-2), 130.6 (C-3), 121.7 (C-4), 68.8 (C-7), 41.5 (C-1), 31.1 (C-11), 28.2

(C-9), 28.0 (C-8), 25.1 (C-10), 22.0 (C-12), 13.9 (C-13); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2958, 2923,

2856, 2691, 2574, 2056, 1758, 1720, 1596, 1511, 1464, 1428, 1384, 1244, 1222, 1208,

1178, 1113, 1078, 1011, 965, 880, 840, 823, 780, 732, 590, 532, 511, 440; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>,

*m/z*): ber.: 266.1751 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 266.1742 [M+H]<sup>+</sup>.



### Darstellung von 1-(Heptyl(4-(hydroxymethyl)phenyl)carbonyl)-3-(2',3',5'-tri-O-benzyl-ribofuranosyl)benzamid (131)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.44 g 2,3,5-Tri-O-benzylribofuranosyl-1-benzoesäure **79** (0.85 mmol, 1.0 Äquiv.) in 8 mL abs. Dichlormethan gelöst. Nachdem 0.33 mL Diisopropylethylamin (0.25 g, 1.9 mmol, 2.2 Äquiv.) und 0.38 g 2-(1*H*-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU) (1.0 mmol, 1.2 Äquiv.) hinzugegeben wurden, wurde die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 0.39 g 4-(Aminomethyl)phenylheptylcarbonathydrochlorid **128** (1.3 mmol, 1.5 Äquiv.) und 34 mg DMAP (0.30 mmol, 0.35 Äquiv.) zugegeben und die Lösung wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe einer gesättigten Natriumchloridlösung beendet. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 3:1 v/v → PE/EE 2:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.50 g (0.64 mmol, 76 %)

eines gelben Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (PE/EE

2:1 v/v): 0.40; **<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm]

(400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.05 (t,  $^3J_{\text{HH}} =$

6.0 Hz, 1H, NH), 7.95-7.92 (m, 1H,

H-2), 7.82-7.79 (m, 1H, H-4), 7.58-

7.53 (m, 1H, H-6), 7.43-7.19 (m, 18H,

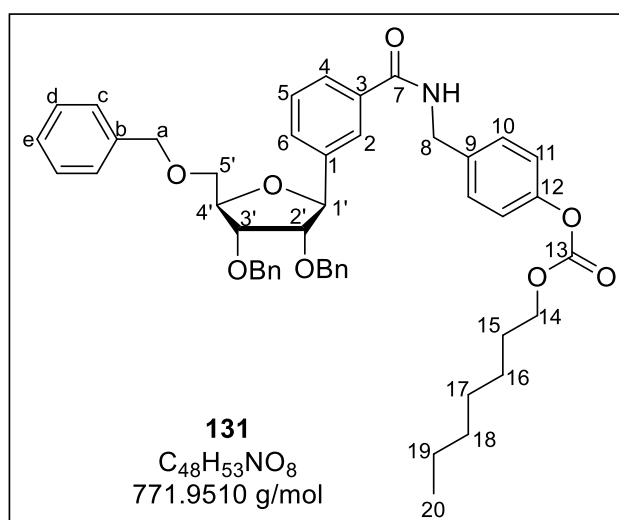
H-5, H-10, H-c, H-d, H-e), 7.18-7.14

(m, 2H, H-11), 4.93 (d,  $^3J_{\text{HH}} =$  6.7 Hz,

1H, H-1'), 4.62-4.43 (m, 8H, H-a, H-8),

4.27 (q,  $^3J_{\text{HH}} =$  4.1 Hz, 1H, H-4'), 4.18

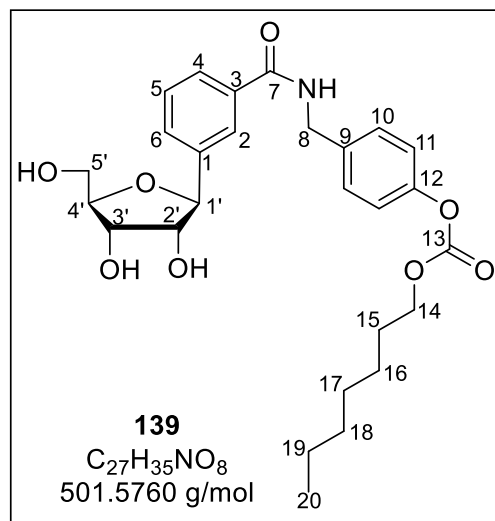
(t,  $^3J_{\text{HH}} =$  6.6 Hz, 2H, H-14), 4.08 (dd,  $^3J_{\text{HH}} =$  5.0 Hz,  $^3J_{\text{HH}} =$  3.7 Hz, 1H, H-3'), 3.93 (dd,  $^3J_{\text{HH}} =$  6.8 Hz,  $^3J_{\text{HH}} =$  4.9 Hz, 1H, H-2'), 3.71-3.60 (m, 2H, H-5', H-5''), 1.65 (p,  $^3J_{\text{HH}} =$  6.7 Hz, 2H, H-15), 1.37-1.21 (m, 8H, H-16, H-17, H-18, H-19), 0.89-0.82 (m, 3H, H-20); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 166.2 (C-7), 153.2 (C-13), 149.6 (C-3), 140.8 (C-1), 138.3, 138.3 (C-b), 138.0 (C-12), 137.6 (C-b), 134.3 (C-9), 129.0, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 127.6, 127.5, 127.4, 126.5 (C-c, C-d, C-e, C-4, C-5, C-6, C-11), 125.4 (C-2), 121.1 (C-10), 83.5 (C-2'), 81.5 (C-1'), 81.4 (C-4'), 77.4 (C-3'), 72.4, 71.3, 71.0 (C-a), 70.3 (C-5'), 68.5 (C-14), 42.1 (C-8), 31.1 (C-18, C-19), 28.3 (C-15), 28.0 (C-17), 25.1 (C-16), 22.0 (C-18, C-19), 13.9 (C-20); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3336, 3064, 3031, 3936, 2858, 1758, 1644, 1606, 1586, 1532, 1497, 1454, 1390, 1359, 1246, 1214, 1125, 1076, 1053, 1017, 959, 911, 843, 818, 779, 734, 696, 708, 557, 540, 464; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 772.3844 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 772.3853 [M+H]<sup>+</sup>.



### Darstellung von 1-(Heptyl(4-(hydroxymethyl)phenyl)carbonyl)-3-(ribofuranosyl)benzamid (139)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.48 g der maskierten Verbindung **131** (0.62 mmol, 1.0 Äquiv.) in 12 mL abs. Dichlormethan gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 2.2 mL einer 1 M Bortrichlorid-Lösung in Dichlormethan (2.2 mmol, 3.5 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung für 3 h bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt wurde, wurde diese zu einer auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten und gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung getropft. Die wässrige Phase wurde viermal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  30:1 v/v  $\rightarrow$   $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  15:1 v/v).

**Ausbeute:** 0.23 g (0.46 mmol, 75 %) eines farblosen Feststoffes. **DC**  $R_f$ -Wert ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  15:1 v/v): 0.16;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 9.05 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz, 1H, NH), 7.88-7.87 (m, 1H, H-2), 7.80-7.77 (m, 1H, H-4), 7.59-7.56 (m, 1H, H-6), 7.45-7.41 (m, 1H, H-5), 7.38-7.34 (m, 2H, H-10), 7.19-7.16 (m, 2H, H-11), 5.01 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1H, OH-2'), 4.91 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.8$  Hz, 1H, OH-3'), 4.80 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6$  Hz, 1H, OH-5'), 4.61 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.48 (d,  $^3J_{\text{HH}} =$



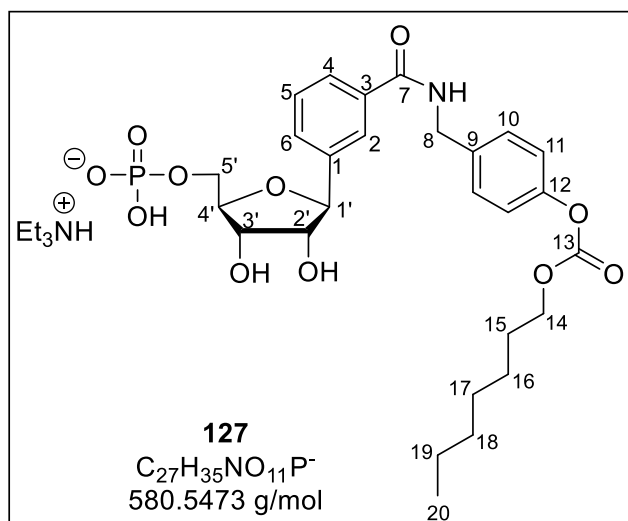
6.0 Hz, 2H, H-8), 4.18 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, 2H, H-14), 3.90-3.88 (m, 1H, H-3'), 3.85-3.82 (m, 1H, H-4'), 3.74-3.69 (m, 1H, H-2'), 3.60-3.53 (m, 2H, H-5', H-5''), 1.68-1.62 (m, 2H, H-15), 1.36-1.22 (m, 8H, H-16, H-17, H-18, H-19), 0.89-0.83 (m, 3H, H-20);  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 166.3 (C-7), 153.2 (C-13), 149.5 (C-12), 141.7 (C-1), 137.7 (C-9), 134.2 (C-3), 129.1 (C-6), 128.3 (C-10), 128.0 (C-5), 126.1 (C-4), 125.3 (C-2), 121.1 (C-11), 85.2 (C-4'), 82.8 (C-1'), 77.5 (C-2'), 71.4 (C-3'), 68.5 (C-14), 62.0 (C-5'), 42.1 (C-8), 31.1, 28.3, 28.0, 25.1, 22.0 (C-15, C-16, C-17, C-18, C-19), 13.9 (C-20); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3322, 2927, 2858, 1757, 1641, 1607, 1585, 1539, 1509, 1467, 1432, 1391, 1247, 1215, 1170, 1115, 1048, 1022, 999, 822, 759, 699, 671, 611, 536; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 502.2435 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 502.2425 [M+H]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 1-(Heptyl(4-(hydroxymethyl)phenyl)carbonyl)-3-(5'-phosphoryl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)benzamid (127)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.23 g der maskierten Benzoesäure **139** (0.46 mmol, 1.0 Äquiv.) in 10 mL Trimethylphosphat gelöst. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und 0.42 mL Phosphorylchlorid (POCl<sub>3</sub>) (0.70 g, 4.6 mmol, 10 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 6 h gerührt. Da jedoch kein vollständiger Umsatz des Eduktes beobachtet werden konnte, wurden weitere 0.42 mL Phosphoroxchlorid (0.70 mg, 4.56 mmol, 10 Äquiv.) zugegeben. Nachdem die Reaktion für weitere 2 h bei 0 °C gerührt wurde, wurde diese zu einem auf 0 °C gekühlten 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (TEAB) gegeben. Es wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN-Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.67 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 0.28 g (0.41  $\mu$ mol, 90 %)

eines farblosen amorphen Feststoffes. <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9.83 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, H-2), 7.81-7.77 (m, 1H, H-4), 7.46-7.43 (m, 1H, H-6), 7.41-7.37 (m, 3H, H-5, H-10), 7.15-7.11 (m, 2H, H-11), 4.64 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-1'), 4.44 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, 2H, H-8), 4.17 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, 2H, H-14), 3.99-3.96 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.95-3.89 (m, 1H, H-5'), 3.86-3.78

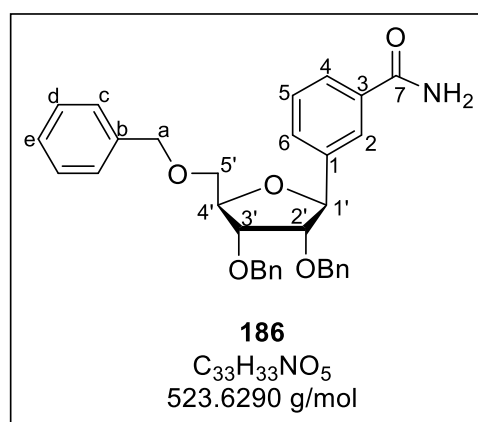


(m, 2H, H-2', H-5''), 2.93 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 6H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.68-1.61 (m, 2H, H-15), 1.38-1.22 (m, 8H, H-16, H-17, H-18, H-19), 1.11 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 8H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.89-0.84 (t, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, 3H, H-20); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 166.5 (C-7), 153.7 (C-13), 149.9 (C-12), 142.4 (C-1), 138.6 (C-9), 134.7 (C-3), 129.9 (C-6), 129.0 (C-10), 128.3 (C-5), 127.2 (C-4), 125.1 (C-2), 121.3 (C-11), 84.2 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.2 Hz, C-4'), 83.4 (C-1'), 78.5 (C-2'), 72.5 (C-3'), 68.9 (C-14), 65.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.2 Hz, C-5'), 45.6 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 42.6 (C-8), 31.7 (C-18), 38.7, 28.7 (C-15, C-17), 25.6 (C-16), 22.5 (C-19), 14.4 (C-20), 9.1 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>31</sup>P-NMR:  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -0.2; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3376, 3272, 2930, 2859, 1758, 1586, 1539, 1509, 1480, 1438, 1393, 1234, 1213, 1166, 1145, 1059, 1038, 920, 816, 780, 744, 733, 699, 606, 504, 409; HRMS (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 580.2099 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 580.1957 [M-H]<sup>-</sup>.

### Darstellung von 3-(2',3',5'-Tri-O-benzyl-β-D-ribofuranosyl)benzamid (186)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.1 g 2,3,5-Tri-O-benzylribofuranosyl-1-benzoesäure **79** (0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) in 2 mL Thionylchlorid gelöst und 0.15 mL Dimethylformamid zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 40 min bei 90 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde nach dem Abkühlen langsam zu einer auf 0 °C gekühlten, konzentrierten Ammoniaklösung (25 %-ig) getropft. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1 v/v → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> → CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 20:1 v/v).

**Ausbeute:** 67 mg (0.13 mmol, 64 %) eines gelben Öls. **DC** *R<sub>F</sub>*-Wert (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50:1 v/v): 0.17; **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.92-7.90 (m, 1H, H-2), 7.80-7.76 (m, 1H, H-4), 7.56-7.51 (m, 1H, H-6), 7.39-7.21 (m, 16H, H-5, H-c, H-d, H-e), 4.92 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, 1H, H-1'), 4.59-4.45 (m, 6H, H-a), 4.26 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-4'), 4.10-4.06 (m, 1H, H-3'), 3.93 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, 1H, H-2'), 3.70-



3.60 (m, 2H, H-5', H-5''); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 168.3 (C-7), 141.1 (C-1), 138.7, 138.7, 138.5 (C-b), 134.8 (C-3), 129.4 (C-6), 128.7, 128.7, 128.6, 128.5, 128.3, 128.0, 128.0, 127.9, 127.9 (C-c, C-d, C-e, C-5), 127.2 (C-4), 126.1 (C-2), 83.9 (C-2'), 82.1 (C-1'), 81.8 (C-4'), 77.9 (C-3'), 72.9 (5'-C-a), 71.6 (2'-C-a), 71.5 (3'-C-a), 70.8 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>): 3343, 3192, 3062, 3030, 2862, 1660, 1605, 1584, 1496, 1453, 1383, 1360, 1311, 1259, 1208, 1086, 1050, 1026, 909, 815, 733, 695, 617, 465; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, *m/z*): ber.: 546.2251 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 546.2251 [M+Na]<sup>+</sup>.

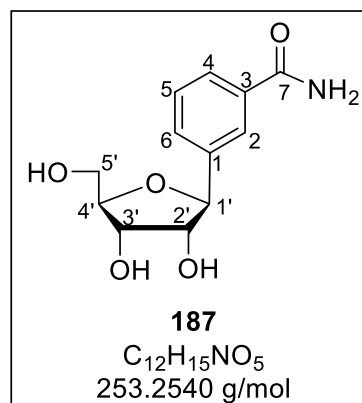
**Darstellung von 3-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl)benzamid (187)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.12 g der benzylierten Verbindung **186** (0.23 mmol, 1.0 Äquiv.) in 8 mL abs. Dichlormethan gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 0.85 mL einer 1 M Bortrichlorid-Lösung in Dichlormethan (0.85 mmol, 3.5 Äquiv.) langsam zugetropft. Nachdem die Reaktionslösung für 2 h bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt wurde, wurde eine auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlte Lösung aus Methanol und Diethylether (1:1) zuge-  
tropft. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde  
via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ -Gradient).

**Ausbeute:** 0.45 mg (0.20 mmol, 77 %) eines farblosen

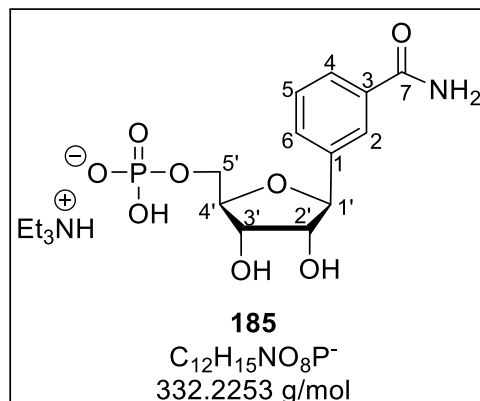
Öls. **DC**  $R_f$ -Wert (EE/ $\text{CH}_3\text{OH}$  9:1 v/v): 0.22;  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, MeOD): 7.98-7.95 (m, 1H, H-2), 7.82-7.78 (m, 1H, H-4), 7.67-7.63 (m, 1H, H-6), 7.45 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7\text{ Hz}$ , 1H, H-5), 4.76 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0\text{ Hz}$ , 1H, H-1'), 4.06 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9\text{ Hz}$ , 1H, H-3'), 4.00 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1\text{ Hz}$ , 1H, H-4'), 3.87-3.80 (m, 2H, H-2', H-5'), 3.75 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1\text{ Hz}$ , 1H, H-5'');  **$^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (126 MHz, MeOD): 173.4 (C-7), 142.6 (C-1), 135.0 (C-3),

130.1 (C-6), 129.5 (C-5), 128.0 (C-4), 126.4 (C-2), 86.7 (C-4'), 84.9 (C-1'), 79.3 (C-2'), 72.9 (C-3'), 63.5 (C-5'); **IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3338, 2923, 1656, 1604, 1578, 1450, 1391, 1217, 1108, 1019, 913, 881, 859, 817, 756, 691, 622, 535, 488, 410; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 276.0842 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: 276.0842 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Darstellung von 3-(5'-Phosphoryl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)benzamid (185)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 40 mg des Benzamids **187** (0.16 mmol, 1.0 Äquiv.) in 5.0 mL Trimethylphosphat gelöst. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 0.08 mL Phosphorylchlorid ( $\text{POCl}_3$ ) (0.1 g, 0.8 mmol, 5 Äquiv.) langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 4 h gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde ein auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlter 1 M Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (TEAB) zum Reaktionsgemisch gegeben. Es wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt via automatisierter Säulenchromatographie gereinigt ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ -Gradient). Die Ausbeute wurde bezogen auf 1.1 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 44.3 mg (91.3  $\mu\text{mol}$ , 63 %) eines leicht gelben amorphen Feststoffes.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.10-8.08 (m, 1H, H-2), 7.80-7.77 (m, 1H, H-4), 7.48-7.44 (m, 1H, H-6), 7.40-7.36 (m, 2H, H-5), 4.62 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, 1H, H-1'), 3.96-3.94 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.89-3.84 (m, 2H, H-5', OH), 3.83-3.78 (m, 3H, H-2', H-5'', OH), 2.89 (m, 7H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 1.11 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, 10H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 168.3 (C-7), 142.1 (C-1), 134.7 (C-3), 129.8 (C-6), 128.2 (C-5), 127.2 (C-4), 125.7 (C-2), 84.2 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 7.1$  Hz, C-4'), 83.4 (C-1'), 78.3 (C-2'), 72.5 (C-3'), 65.3 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 5.1$  Hz, C-5'), 45.6 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 9.7 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ); **IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3199, 2987, 2944, 2689, 2499, 1665, 1619, 1581, 1451, 1395, 1157, 1036, 915, 807, 696, 504, 460; **HRMS (ESI $^-$ , m/z):** ber.: 332.0541 [M-H] $^-$ , gef.: 332.0539 [M-H] $^-$ .



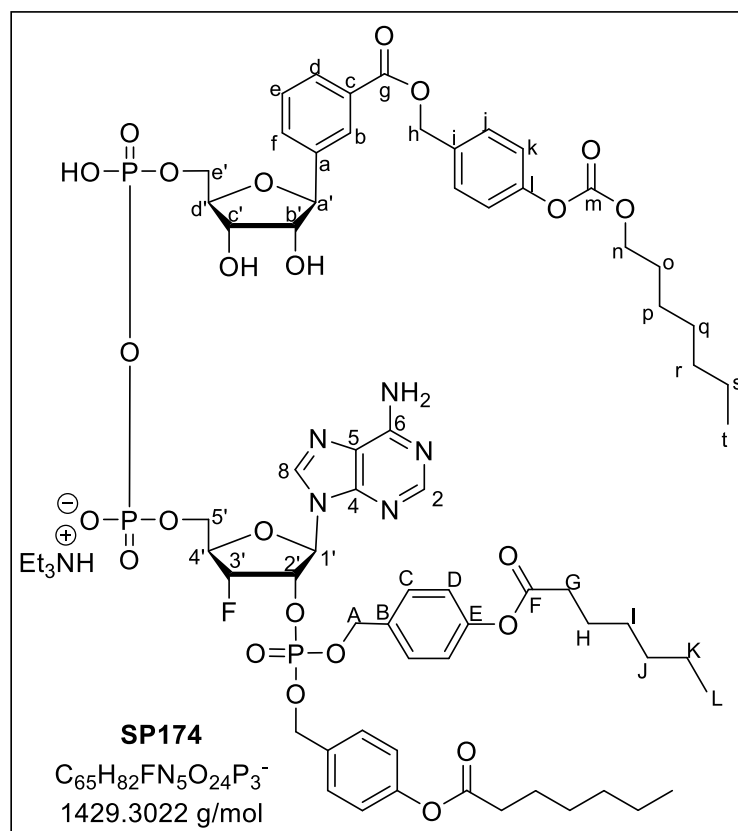
## 7.2.5 Synthese unterschiedlicher MASTER-NAADP-Derivate

### Darstellung von 3'-F-MASTER-NAADP (42)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.12 mL Triethylamin (85 mg, 0.84 mmol, 16 Äquiv.) in 1.2 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst. Es wurden 73  $\mu\text{L}$  Trifluoressigsäureanhydrid (0.11 g, 0.55 mmol, 10 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung für 10 min gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 35 mg der Verbindung **48** (52  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) in 3.8 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  getropft. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.0 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst und mit 73  $\mu\text{L}$  Triethylamin (53 mg, 0.52 mmol, 10 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 25  $\mu\text{L}$  1-Methylimidazol (26 mg, 0.31 mmol, 6.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 0.40 mg der Verbindung **49** (0.042 mmol, 0.80 Äquiv.) in 2.0 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  wurde zur Reaktionslösung getropft. Im Anschluss wurde mit 1.5 mL  $\text{CH}_3\text{CN}$  nachgespült. Nach 7 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in einem Triethylammoniumbicarbonat-Puffer gerührt und mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.67 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 12 mg

(7.6  $\mu\text{mol}$ , 18 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.  **$^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (600 MHz, MeOD): 9.69 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 8.09-8.07 (m, 1H, H-b), 7.93-7.90 (m, 1H, H-d), 7.80-7.77 (m, 1H, H-f), 7.52-7.49 (m, 2H, H-j), 7.45 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 1H, H-e), 7.22-7.18 (m, 4H, H-C), 7.10-7.05 (m, 2H, H-k), 7.02-6.99 (m, 2H, H-D), 6.98-6.94 (m, 2H, H-D), 6.36 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 5.62 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, 1H, H-2'), 5.53 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz,



1H, H-3'), 5.37-5.33 (m, 2H, H-h), 4.97-4.92 (m, 2H, H-A'), 4.82-4.70 (m, 2H, H-A), 4.37-4.33 (m, 2H, H-a', H-4'), 4.33-4.30 (m, 1H, H-3'), 4.30-4.15 (m, 6H, H-5', H-5'', H-e', H-e'', H-n), 3.97-3.94 (m, 2H, H-c', H-d'), 3.27-3.22 (m, 5H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ , H-b'), 2.57 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-G, H-G'), 1.69-1.64 (m, 4H, H-H, H-H'), 1.63-1.58 (m, 2H, H-o), 1.47-1.28 (m, 20H, H-K, H-K', H-J, H-', H-I, H-I', H-s, H-r, H-q, H-p), 1.04 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.96-0.89 (m, 9H, H-t, H-L, H-L');  **$^{19}\text{F-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (565 MHz, MeOD): -198.21- (-198.42) (m);  **$^{31}\text{P-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (243 MHz, MeOD): -2.8 (s, P-2'), -10.2 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 21.3$  Hz, P-5'/P-e'), -10.9 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 21.3$  Hz, P-5'/P-e'); **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 1428.4552 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1428.4556 [M-H]<sup>-</sup>.

### Darstellung von 3'-OMe-MASTER-NAADP (100)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.13 mL Triethylamin (97 mg, 1.0 mmol, 16 Äquiv.) in 1.4 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst. Es wurden 83  $\mu\text{L}$  Trifluoressigsäureanhydrid (0.13 g, 0.60 mmol, 10 Äquiv.) bei 0 °C zugegeben und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 40 mg der Verbindung **48** (60  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  getropft. Nachdem die Reaktionslösung 15 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der

Rückstand wurde in 4.6 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und mit 83 µL Triethylamin (60 mg, 0.60 mmol, 10 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 29 µL 1-Methylimidazol (30 mg, 0.36 mmol, 6.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 43 mg der Verbindung **122** (0.048 mmol, 0.80 Äquiv.) in 2.3 mL abs. CH<sub>3</sub>CN wurde zur Reaktionslösung getropft. Im Anschluss wurde mit 1.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN nachgespült. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.61 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 53 mg (35 µmol,

74 %) eines farblosen amorphen

Feststoffes. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ

[ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

8.46 (s, 1H, H-8), 8.14 (s,

1H, H-2), 7.95 (d, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub>

= 1.9 Hz, 1H, H-b), 7.88-

7.86 (m, 1H, H-d), 7.73-7.69

(m, 1H, H-f), 7.56-7.51 (m,

2H, H-j), 7.47(t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub>

= 7.7 Hz, 1H, H-e), 7.39 (s,

2H, NH<sub>2</sub>), 7.35-7.31 (m, 2H,

H-C), 7.29-7.22 (m, 4H, H-k,

H-C'), 7.10-7.06 (m, 2H, H-

D), 7.06-7.02 (m, 2H, H-D'),

6.20 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, 1H,

H-1'), 5.56 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.0 Hz,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, 1H, H-2'), 5.35 (s, 2H, H-h), 5.00 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.2 Hz, 1H, H-

A), 4.95 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.3 Hz, 1H, H-A'), 4.91-4.82 (m, 2H, H-A''), 4.66 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub>

= 6.8 Hz, 1H, H-a'), 4.27 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-4'), 4.22-4.13 (m, 3H, H-n, H-3'), 4.09-

4.03 (m, 4H, H-5', H-5'', H-e', H-e''), 4.02-3.97 (m, 2H, H-c', H-d'), 3.71 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 1H, H-b'), 3.38 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.11-3.05 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> =

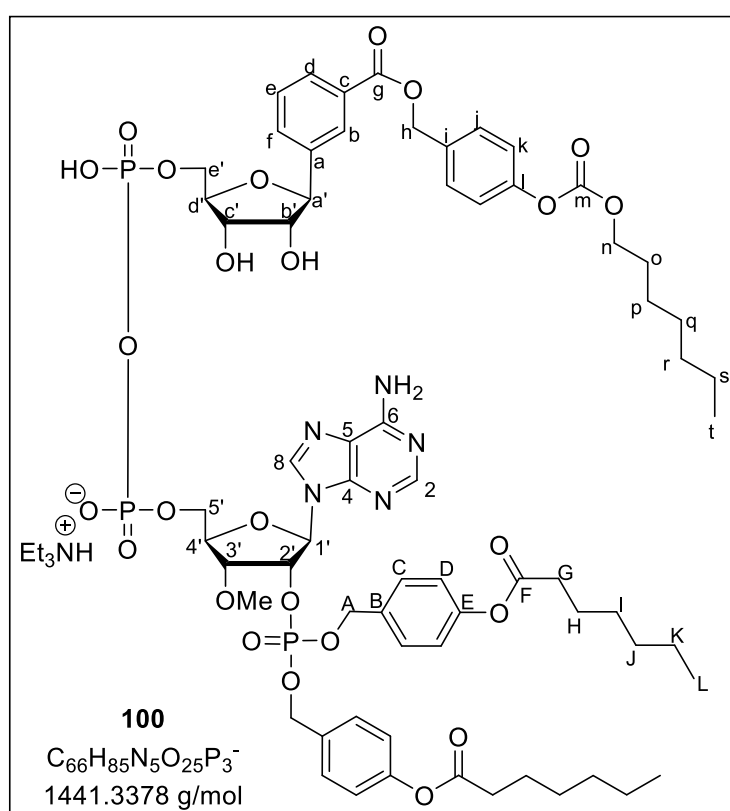
7.4 Hz, 4H, H-G, H-G'), 1.70-1.59 (m, 6H, H-o, H-H, H-H'), 1.39-1.21 (m, 20H, H-K, H-K',

H-J, H-J', H-I, H-I', H-s, H-r, H-q, H-p), 1.16 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 5H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.92-0.82

(m, 9H, H-t, H-L, H-L'); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.2, 172.2 (C-F, C-F'),

166.1 (C-g), 156.3 (C-6), 153.5 (C-m), 153.1 (C-2), 150.9, 150.9, 150.9 (C-E, C-E', C-I),

149.8 (C-4), 142.4 (C-a), 139.7 (C-8), 134.5 (C-i), 133.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.4 Hz, C-B), 133.5 (d,

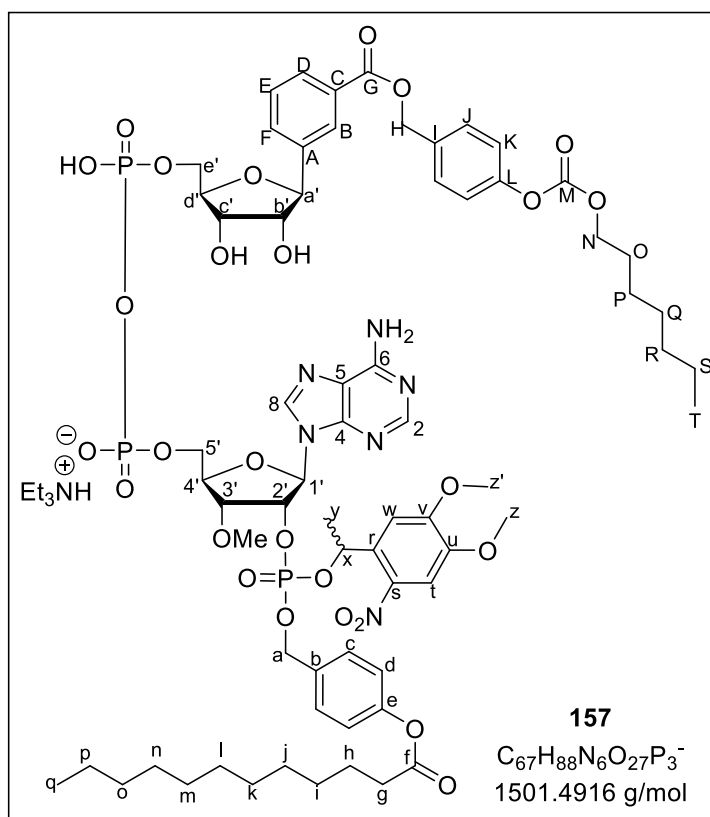


$^3J_{CP} = 7.5$  Hz, C-B'), 131.3 (C-f), 129.8 (C-j), 129.7 (C-c), 129.7, 129.6 (C-C, C-C'), 129.2 (C-e), 128.7 (C-d), 127.4 (C-b), 122.3, 122.3 (C-D, C-D'), 121.9 (C-k), 119.3 (C-5), 86.0 (d,  $^3J_{CP} = 6.4$  Hz, C-1'), 83.4 (C-a'), 83.2 (C-d'), 81.3 (d,  $^3J_{CP} = 8.8$  Hz, C-4'), 78.6 (d,  $^3J_{CP} = 3.4$  Hz, C-3'), 77.9 (C-b'), 77.3 (d,  $^2J_{CP} = 5.3$  Hz, C-2'), 71.5 (C-c'), 69.1 (C-n), 68.9 (d,  $^2J_{CP} = 8.0$  Hz, C-A), 68.7 (d,  $^3J_{CP} = 7.1$  Hz, C-A'), 66.4 (C-e'), 66.0 (C-h), 65.3 (d,  $^2J_{CP} = 6.2$  Hz, C-5'), 58.3 (OCH<sub>3</sub>), 46.2 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.9 (C-G, C-G'), 31.6, 31.4, 28.7, 28.5, 28.4, 25.6, 24.7, 22.5, 22.4 (C-H, C-H', C-I, C-I', C-J, C-J', C-K, C-K', C-o, C-p, C-q), 14.4 (C-t), 14.4 (C-L, C-L'), 9.1 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  **$^{31}\text{P-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -1.9 (P-2'), -11.0 (d,  $^2J_{PP} = 18.5$  Hz, P-5'/P-e'), -11.2 (d,  $^2J_{PP} = 18.5$  Hz, P-5'/P-e'); **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, *m/z*): ber.: 1440.4752 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1440.4753 [M-H]<sup>-</sup>.

**Darstellung von 3'-OMe-MeNV-MASTER-NAADP (157)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 89  $\mu\text{L}$  Triethylamin (65 mg, 0.64 mmol, 24 Äquiv.) in 1.4 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst. Es wurden 56  $\mu\text{L}$  Trifluoressigsäureanhydrid (84 mg, 0.40 mmol, 15 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 18 mg der Verbindung **48** (27  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  getropft. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.6 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst und mit 55  $\mu\text{L}$  Triethylamin (40 mg, 0.40 mmol, 15 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 19  $\mu\text{L}$  1-Methylimidazol (20 mg, 0.24 mmol, 9.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 23 mg der Verbindung **155** (24  $\mu\text{mol}$ , 0.90 Äquiv.) in 2.3 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  wurde zur Reaktionslösung getropft. Nach 5.5 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf ein Äquivalent Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 17 mg (10  $\mu\text{mol}$ , 43 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.50 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.47 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.41 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.39 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.15 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.13 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.10 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.08 (s, 1H, H-2, 1ds), 7.97-7.95 (m, 4H, H-B, 4ds), 7.90-7.87 (m, 4H, H-D, 4ds), 7.74-7.69 (m, 4H, H-F, 4ds), 7.56-7.45 (m, 16H, H-t, H-J, H-E, 4ds), 7.37-7.15 (m, 24H, H-K, H-c,  $\text{NH}_2$ , 4ds), 7.12-6.99 (m, 12H, H-d, H-w, 4ds), 6.18



(d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.14 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.10 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.05 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, 1H, H-1', 1ds), 5.60-5.52 (m, 4H, H-2', 4ds), 4.99 (d,  $^3J_{\text{HP}} = 8.2$  Hz, 2H, H-a, 1ds), 4.92-4.83 (m, 6H, H-a, 3ds), 4.67 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, 4H, H-a',

4ds), 4.25-3.95 (m, 40H, H-N, H-c', H-d', H-d'', H-e', H-b', H-3', H-4', H-5', H-5'', 4ds), 3.87-3.77 (m, 24H, H-z, H-z', 4ds), 3.40 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.36 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.34 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.31 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.11-3.04 (m, 20H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.59-2.54 (m, 8H, H-g, 4ds), 1.69-1.60 (m, 16H, H-o, H-h, 4ds), 1.52 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, 3H, H-y, 1ds), 1.48-1.40 (m, 9H, H-y, 3ds), 1.38-1.20 (m, 96H, H-P, H-Q, H-R, H-S, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 4ds), 1.16 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, 32H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90-0.83 (m, 24H, H-T, H-q, 4ds).

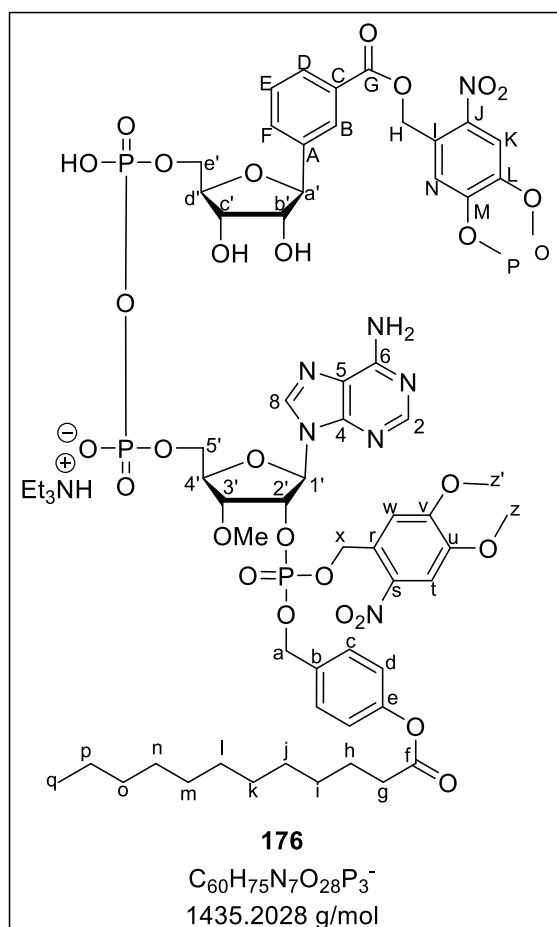
Weil es sich bei dem Produkt **157** um ein Gemisch aus vier Diastereomeren handelt, konnte das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum aufgrund der Komplexität und den überlagernden Signalen nur eingeschränkt ausgewertet werden. Zusätzlich wurden einige <sup>13</sup>C-Signale nur mit Hilfe des HSQC- und des HMPC-Spektrums zugeordnet bzw. konnten aufgrund der geringen Signalintensität durch die geringe Substanzmenge überhaupt nicht zugeordnet werden.

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.2 (C-f), 166.1 (C-G), 156.5 (C-6), 153.9 (C-v), 153.5 (C-M), 153.2 (C-2), 150.9 (C-L), 150.8 (C-e), 149.8 (C\_4), 148.3 (C-u), 134.5 (C-l), 133.5 (C-b), 131.3 (C-C), 129.8 (C-J), 129.4 (C-c), 129.2, 128.7 (C-D, C-E), 127.3 (C-B), 122.3, 122.2 (C-d), 121.9 (C-K), 119.4 (C-5), 109.2 (C-w), 107.8 (C-t), 85.8 (C-1'), 83.5 (C-d'), 83.2 (C-a'), 81.0, 78.4 (C-3', C-4'), 77.9 (C-b'), 76.9 (C-2'), 72.8 (C-x), 71.4 (C-c'), 69.1 (C-N), 66.0 (C-e', C-H), 58.2 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.6 (C-z, C-z'), 45.4 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.9 (C-g), 31.8, 31.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 28.6, 28.7, 28.4, 25.5, 24.8 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, C-O, C-P, C-Q, C-R), 22.6 (C-S), 22.5 (C-p), 14.4, 14.4 (C-q, C-T), 9.0 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  
**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -2.7, -2.9, -3.2, -3.5 (P-2', 4ds), -11.0 (d, <sup>2</sup>J<sub>PP</sub> = 18.5 Hz, P-5'/P-e', 4ds), -11.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>PP</sub> = 18.5 Hz, P-5'/P-e', 4ds); **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 1501.4916 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1501.4908 [M-H]<sup>-</sup>.

**Darstellung von NV-3'-OMe-MASTER-NAADP (176)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.11 mL Triethylamin (78 mg, 0.77 mmol, 24 Äquiv.) in 1.4 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst. Es wurden 67 µL Trifluoressigsäureanhydrid (0.10 g, 0.48 mmol, 15 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 20 mg der Verbindung **162** (32 µmol, 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN getropft. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.6 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und mit 67 µL Triethylamin (49 mg, 0.48 mmol, 15 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 23 µL 1-Methylimidazol (24 mg, 0.29 mmol, 9.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 8 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 29 mg der Verbindung **171** (29 µmol, 0.90 Äquiv.) in 2.3 mL abs. CH<sub>3</sub>CN wurde zur Reaktionslösung getropft. Nach 8 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.9 Äquivalent Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 17 mg (11 µmol, 38 %) eines farblosen amorphen Feststoffes. **<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.49 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.45 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.08 (s, 1H, H-2, 1ds), 7.99 (s, 1H, H-2, 1ds), 7.97-7.95 (m, 2H, H-B, 2ds), 7.87-7.85 (m, 2H, H-D, 2ds), 7.73-7.70 (m, 3H, H-F, 2ds, H-K, 2ds), 7.66 (s, 1H, H-t, 1ds), 7.62 (s, 1H, H-t, 1ds), 7.50-7.47 (m, 2H, H-E, 2ds), 7.41-7.37 (m, 2H, H-C, 1ds), 7.34 (s, 2H, H-N, 2ds), 7.30-7.20 (m, 6H, H-c, 1ds, NH<sub>2</sub>, 2ds), 7.10-7.06 (m, 3H, H-w, 1ds, H-d, 1ds), 7.05-7.02 (m, 2H, H-d, 1ds), 6.98 (s, 1H, H-w, 1ds), 6.19 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.15 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, 1H, H-1', 1ds), 5.37 (dd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.1 Hz, 1H, H-x, 1ds), 5.34-5.27 (m, 1H, H-x, 1ds), 5.25 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.1 Hz, 2H, H-x, 2ds), 5.12-5.05 (m, 2H, H-a, 1ds), 4.97 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.1 Hz, 2H, H-a, 1ds), 4.65 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> =



6.6 Hz, 2H, H-a', 2ds), 4.28-4.21 (m, 4H, H-3', 2ds, H-4', 2ds), 4.12-3.92 (m, 14H, H-c', H-d', H-e', H-e'', OH- b', H-5', H-5'', 2ds), 3.84 (s, 3H, H-o, 1ds), 3.89-3.84 (m, 9H, H-o, 1ds, H-p, 2ds, H-z, 2ds), 3.81 (s, 3H, H-z', 1ds), 3.78 (s, 3H, H-z', 1ds), 3.70 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 2H, H-b', 2ds), 3.41 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.37 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.05 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 8H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.62 (p,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-h, 2ds), 1.37-1.19 (m, 32H, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 2ds), 1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 12H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.87-0.83 (m, 6H, H-q, 2ds).

Weil es sich bei dem Produkt **176** um ein Gemisch aus zwei Diastereomeren handelt, konnte das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum aufgrund der Komplexität und den überlagernden Signalen nur eingeschränkt ausgewertet werden. Zusätzlich wurden einige <sup>13</sup>C-Signale nur mit Hilfe des HSQC- und des HMPC-Spektrums zugeordnet bzw. konnten aufgrund der geringen Signalintensität durch die geringe Substanzmenge überhaupt nicht zugeordnet werden.

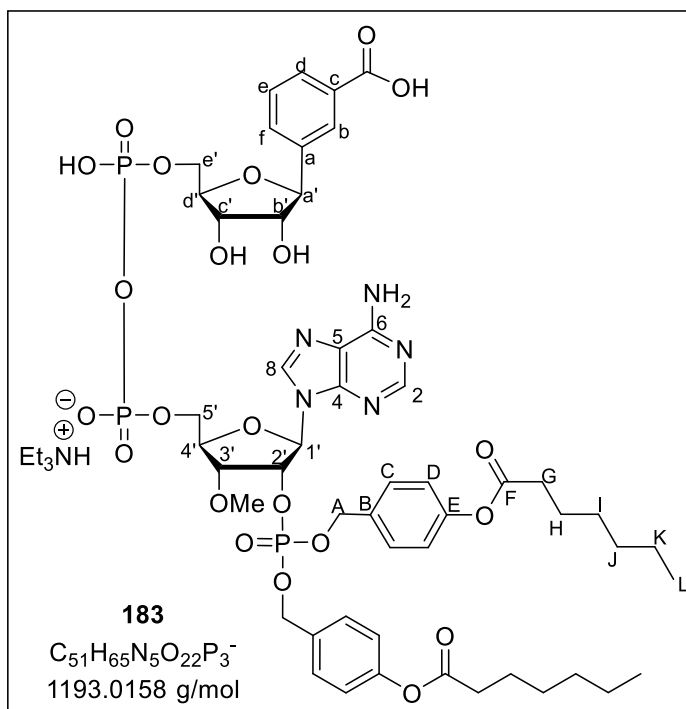
**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.1 (C-f), 165.8 (C-G), 153.2 (C-2), 138.8 (C-8), 131.7 (C-F), 129.3 (C-E), 129.2 (C-c), 127.5 (C-B), 122.0 (C-d), 121.5 (C-N), 110.3 (C-w), 108.4 (C-K), 108.1 (C-t), 85.2 (C-1'), 83.5 (C-d'), 78.6 (C-3', C-4'), 77.8 (C-b'), 77.6 (C-2'), 70.8 (C-c'), 68.9 (C-a), 66.4 (C-x), 64.5, 64.9 (C-5'), 63.8 (C-H), 58.5, 58.1 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.7, 56.6, 56.5, 56.6, 56.5, 56.5 (C-z, C-z', C-o, C-p), 45.9 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.8 (C-g), 31.8, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.8 (C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, C-p), 22.4 (C-i), 14.3 (C-q), 9.0 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -2.1, -2.2 (P-2', 2ds), -11.1 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.1$  Hz, P-5'/P-e', 2ds), -11.3 (m, P-5'/P-e', 2ds); **HRMS** (ESI<sup>+</sup>, m/z): ber.: 1436.4024 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: 1436.4020 [M+H]<sup>+</sup>.

### Darstellung von Benzoessäure-3'-OMe-MASTER-NAADP (183)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.14 mL Triethylamin (0.10 g, 1.0 mmol, 24 Äquiv.) in 1.4 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst. Es wurden 89  $\mu$ L Trifluoressigsäureanhydrid (0.13 g, 0.64 mmol, 15 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 40 mg der Verbindung **122** (0.043 mmol, 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN getropft und mit 0.9 mL abs. CH<sub>3</sub>CN nachgespült. Nachdem die Reaktionslösung 20 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.6 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und mit 89  $\mu$ L Triethylamin (65 mg, 0.64 mmol, 15 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 31  $\mu$ L 1-Methylimidazol (32 mg, 0.38 mmol, 9.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 15 mg der Verbindung **170** (34  $\mu$ mol, 0.8 Äquiv.) in 2.3 mL abs. CH<sub>3</sub>CN und 0.5 mL DMF wurde zur Reaktionslösung getropft. Es wurde mit 0.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN und 0.8 mL abs. DMF nachgespült. Das Lösungsmittel wurde

unter vermindertem Druck entfernt, nachdem die Reaktionslösung 3 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 1.4 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 36 mg (27  $\mu\text{mol}$ , 79 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 8.51 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.93 (s, 1H, H-b), 7.84-7.81 (m, 1H, H-d), 7.65-7.62 (m, 1H, H-f), 7.45-7.41 (m, 1H, H-e), 7.34-7.30 (m, 2H, H-C), 7.24-7.22 (m, 2H, H-C'), 7.10-7.06 (m, 2H, H-D), 7.06-7.02 (m, 2H, H-D'), 6.20 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz, 1H, H-1'), 5.57 (dt,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, 1H, H-2'), 5.99 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.9$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} =$



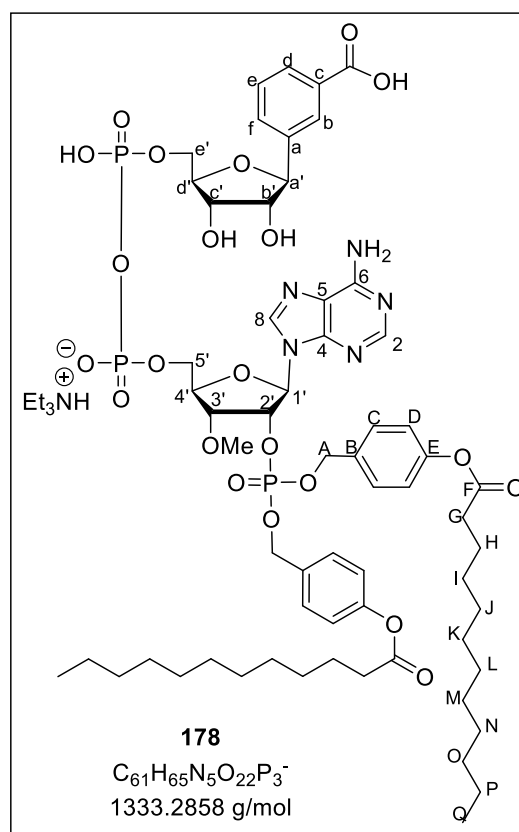
7.9 Hz, 1H, H-A<sub>a</sub>), 4.94 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 11.9$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 8.0$  Hz, 1H, H-A<sub>b</sub>), 4.89-4.84 (m,  $^2J_{\text{HH}} = 2$  Hz, H-A'), 4.64 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, 1H, H-a'), 4.27 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1$  Hz, 1H, H-4'), 4.22 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.06-4.00 (m, 3H, H-c', H-5', H-5''), 4.00-3.95 (m, 2H, H-e', H-e''), 3.72-3.69 (m, 2H, H-b', H-d'), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.05 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 8H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-G, H-G'), 1.63 (p,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-H, H-H'), 1.39-1.21 (m, 12H, H-I, H-I', H-J, H-J', H-K, H-K'), 1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 12H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90-0.84 (m, 6H, H-L, H-L');  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 171.8, 171.7 ( $\underline{\text{C}}\text{OOH}$ , C-F, C-F'), 152.9 (C-2), 152.5 (C-c), 150.6 (C-E), 139.9 (C-8), 139.5 (C-a), 133.1 (C-B), 130.4 (C-f), 129.2, 129.1 (C-c, C-c'), 128.2, 128.4 (C-d, C-e), 126.8 (C-b), 121.8, 121.8 (C-D, C-D'), 85.4 (C-1'), 81.3 (C-4'), 82.8 (C-a'), 78.4 (C-3'), 77.3 (C-d', C-b'), 70.8 (C-c'), 68.4 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 5.0$  Hz, C-A), 68.3 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 5.2$  Hz, C-A'), 64.6 (C-5', C-e'), 57.5 (OCH<sub>3</sub>), 45.4 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.4 (C-G, C-G'), 30.9 (C-J, C-J'), 28.0 (C-I, C-I'), 24.2 (C-H, C-H'), 21.9 (C-K, C-K'), 13.8 (C-L, C-L'), 8.5 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (243 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): -1.9 (P-2'), -11.2 (m, P-5'/P-e'), -11.5 (m, P-5'/P-e'); **HRMS** (ESI, m/z): ber.: 1192.3340 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1192.3342 [M-H]<sup>-</sup>.

**Darstellung von Benzoesäure-3'-OMe-MASTER-NAADP (178)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 63  $\mu\text{L}$  Triethylamin (46 mg, 0.46 mmol, 24 Äquiv.) in 1.4 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst. Es wurden 40  $\mu\text{L}$  Trifluoressigsäureanhydrid (60 mg, 0.29 mmol, 15 Äquiv.) bei 0 °C zutropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 20 mg der Verbindung **179** (19  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  getropft, es wurde mit 0.9 mL  $\text{CH}_3\text{CN}$  nachgespült. Nachdem die Reaktionslösung 20 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.6 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  gelöst und mit 40  $\mu\text{L}$  Triethylamin (29 mg, 0.29 mmol, 15 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 14  $\mu\text{L}$  1-Methylimidazol (14 mg, 0.17 mmol, 9.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 8.8 mg der Verbindung **170** (17  $\mu\text{mol}$ , 0.9 Äquiv.) in 2.3 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  und 0.9 mL DMF wurde zur Reaktionslösung getropft. Es wurde mit 0.5 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  und 0.8 mL abs. DMF nachgespült. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, nachdem die Reaktionslösung 4.5 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 1.6 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 16 mg (11  $\mu\text{mol}$ , 64 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 8.51 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.93 (s, 1H, H-b), 7.83-7.80 (m, 1H, H-d), 7.65-7.61 (m, 1H, H-f), 7.46-7.41 (m, 1H, H-e), 7.34-7.29 (m, 2H, H-C), 7.23-7.19 (m, 2H, H-C'), 7.08-7.05 (m, 2H, H-D), 7.05-7.00 (m, 2H, H-D'), 6.20 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz, 1H, H-1'), 5.57 (dt,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, 1H, H-2'), 4.99 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.9$  Hz, 1H, H-A<sub>a</sub>), 4.93 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 8.4$  Hz, 1H, H-A<sub>b</sub>), 4.89-4.82 (m, 2H, H-A'), 4.64 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, 1H, H-a'), 4.27 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1$  Hz, 1H, H-3'), 4.23 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.4$  Hz, 1H, H-3''), 4.14-4.08 (m, 1H, H-5'), 4.07-4.01 (m, 2H, H-c', H-5''), 4.00-3.94 (m, 2H, H-e', H-e''), 3.73-3.68 (m, 2H, H-b', H-d'), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.05 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, 7H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-G, H-G'), 1.62



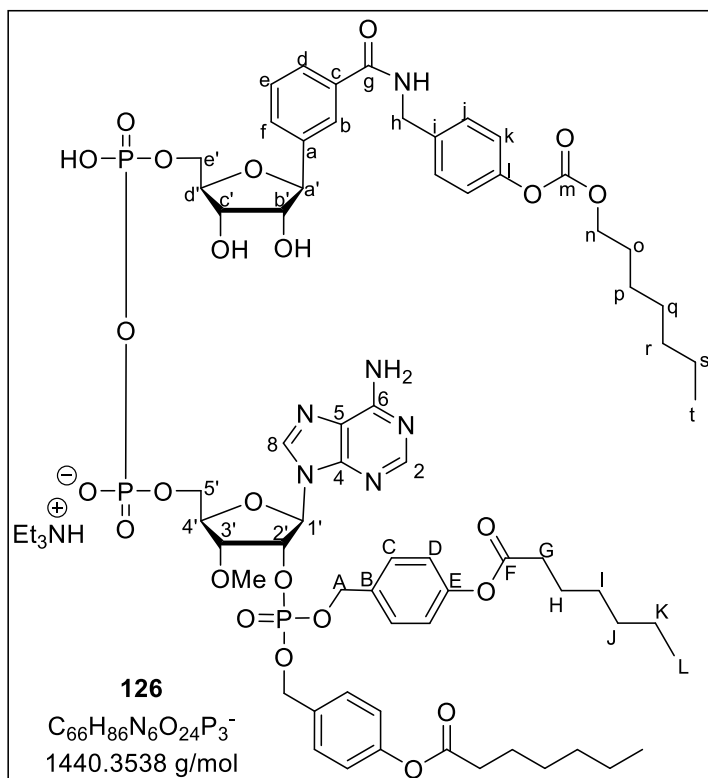
(p,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-H, H-H'), 1.38-1.19 (m, 32H, H-I, H-I', H-J, H-J', H-K, H-K', H-L, H-L', H-M, H-M', H-N, H-N', H-O, H-O', H-P, H-P'), 1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, 10H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88-0.82 (m, 6H, H-Q, H-Q');  **$^{31}\text{P-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -1.9 (P-2'), -11.2 (m, P-5'/ P-e'), -11.5 (m, P-5'/P-e'); **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 1332.4905 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1332.4911 [M-H]<sup>-</sup>.

## 7.2.6 Synthese der unterschiedlichen MASTER-NADP-Derivate

### Darstellung von 3'-OMe-MASTER-NADP (126)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.14 mL Triethylamin (0.10 g, 1.0 mmol, 16 Äquiv.) in 1.4 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst. Es wurden 88  $\mu\text{L}$  Trifluoressigsäureanhydrid (0.13 g, 0.63 mmol, 10 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 43 mg der Verbindung **127** (0.063 mmol, 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN getropft. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.6 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und mit 88  $\mu\text{L}$  Triethylamin (64 mg, 0.64 mmol, 10 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 30  $\mu\text{L}$  1-Methylimidazol (31 mg, 0.38 mmol, 6.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 0.43 mg der Verbindung **122** (0.047 mmol, 0.8 Äquiv.) in 2.3 mL abs. CH<sub>3</sub>CN wurde zur Reaktionslösung getropft. Nach 6 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf ein Äquivalent Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch ein Äquivalent Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 46 mg (30  $\mu\text{mol}$ , 58 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.  **$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 9.52 (s, 3H,  $\text{NH}_2$ , NH), 8.48 (s, 1H, H-8), 8.13 (s, 1H, H-2), 8.10 (s, 1H, H-b), 7.78-7.75 (m, 1H, H-d), 7.48-7.43 (m, 1H, H-f), 7.42-7.36 (m, 3H, H-e, H-10), 7.35-7.29 (m, 2H, H-C), 7.24-7.21 (m, 2H, H-C'), 7.13-7.09 (m, 2H, H-11), 7.09-7.05 (m, 2H, H-D), 7.05-7.02 (m, 2H, H-D'), 6.19 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, 1H, H-1'), 5.60-5.64 (m, 1H, H-2'), 5.00 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.8$  Hz, 1H, H-

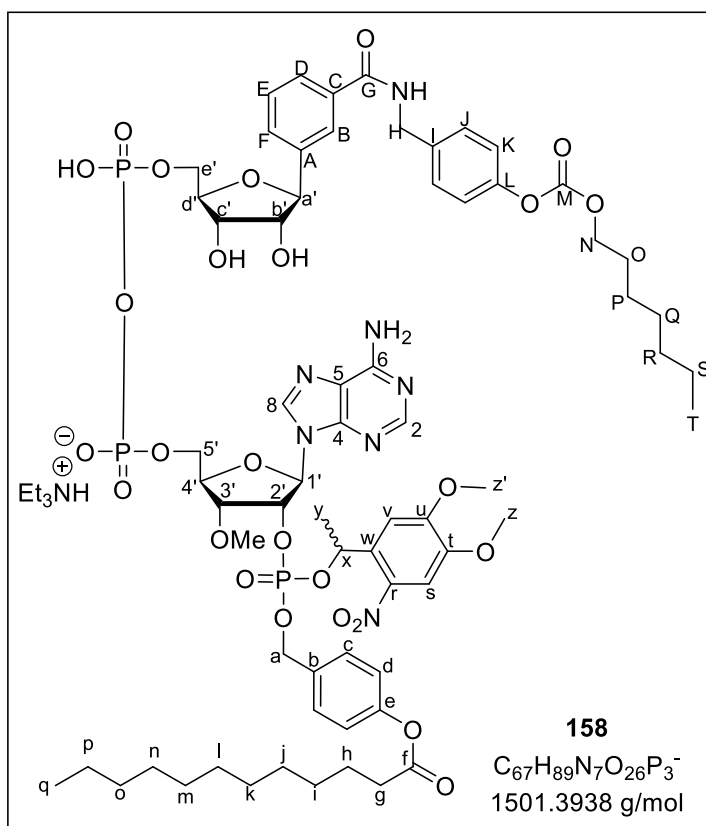


A<sub>a</sub>), 4.95 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 8.0$  Hz, 1H, H-A<sub>b</sub>), 4.89-4.81 (m, 2H, H-A'), 4.67 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz, 1H, H-a'), 4.44 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz, 2H, H-h), 4.25 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1$  Hz, 1H, H-4'), 4.19 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.17-4.10 (m, 3H, H-n, H-5'), 4.10-4.01 (m, 4H, H-5'', H-e', H-e''), H-c'), 4.01-3.99 (m, 1H, H-d'), 3.81 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 5.7$  Hz, 1H, H-b'), 3.35 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.05 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 2.56 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 4H, H-G, H-G'), 1.66-1.59 (m, 6H, H-o, H-H, H-H'), 1.39-1.21 (m, 21H, H-K, H-K', H-J, H-', H-I, H-I', H-s, H-r, H-q, H-p), 1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, 8H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.90-0.82 (m, 9H, H-t, H-L, H-L');  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 172.2 (C-F, C-F'), 166.5 (C-g), 156.5 (C-6), 153.7 (C-m), 153.2 (C-2), 150.9, 150.9 (C-E, C-E'), 149.8 (C-j, C-c), 139.7 (C-4), 139.2 (C-8), 134.5 (C-l), 129.7 (C-C, C-C'), 129.5 (C-j), 129.6 (C-f), 129.1 (C-e), 127.2 (C-d), 124.9 (C-b), 122.3 (C-D), 122.2 (C-D'), 121.3 (C-k), 85.9 (C-1'), 83.9 (C-a'), 83.4 (C-d'), 80.9 (C-4'), 78.3 (C-3', C-b'), 71.5 (C-c'), 68.9 (C-n), 68.7, 68.7 (C-A, C-A'), 65.1 (C-5', C-e'), 58.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 46.0 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 42.7 (C-h), 33.9 (C-G, C-G'), 31.6, 31.4, 28.7, 28.5, 28.4, 28.3, 25.6, 24.7, 22.5, 22.4 (C-H, C-H', C-I, C-I', C-J, C-J', C-K, C-K', C-o, C-p, C-q, C-r, C-s), 14.4 (C-t), 14.4 (C-L, C-L'), 9.0 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (243 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): -1.9 (P-2'), -11.1 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.1$  Hz, P-5'/P-e'), -11.4 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.1$  Hz, P-5'/P-e'); **HRMS (ESI<sup>-</sup>, m/z):** ber.: 1439.4912 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1439.4911 [M-H]<sup>-</sup>.

**Darstellung von 3'-OMe-Photo-MASTER-NADP (158)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.13 mL Triethylamin (93 mg, 0.9 mmol, 24 Äquiv.) in 1.4 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst. Es wurden 80 µL Trifluoressigsäureanhydrid (0.12 g, 0.58 mmol, 15 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 26 mg der Verbindung **127** (38 µmol, 1.0 Äquiv.) in 3.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN getropft. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 4.6 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und mit 80 µL Triethylamin (58 mg, 0.58 mmol, 15 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 28 µL 1-Methylimidazol (28 mg, 0.30 mmol, 9.0 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 0.30 mg der Verbindung **155** (31 µmol, 0.8 Äquiv.) in 2.3 mL abs. CH<sub>3</sub>CN wurde zur Reaktionslösung getropft. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 0.43 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das <sup>1</sup>H-NMR bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 31 mg (20 µmol, 67 %) eines farblosen amorphen Feststoffes. <sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.47 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.44 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.39 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.37 (s, 1H, H-8, 1ds), 8.14 (s, 1H, H-2), 8.13 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.09 (s, 1H, H-2, 1ds), 8.07 (s, 5H, H-2, 1ds, H-B, 4ds), 7.79-7.75 (m, 6H, H-t, 4ds, H-F, 2ds), 7.41-7.36 (m, 10H, H-J, 4ds, H-F, 2ds), 7.33-7.14 (m, 20H, H-c, NH<sub>2</sub>, H-E, 4ds), 7.13-7.09 (m, 8H, H-K, 4ds), 7.08-6.97 (m, 12H, H-d, H-w, 4ds), 6.17 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub>



= 5.0 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.13 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.09 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.04 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, 1H, H-1', 1ds), 6.02-5.98 (m, 3H, H-x, 3ds), 5.97-5.89 (m, 1H, H-x, 1ds), 5.59-5.51 (m, 5H, H-2', 2ds, OH-3'/2', 3ds), 5.47-5.42 (m, 2H, H-2', 2ds), 5.32

(t,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz, 1H, OH-3'/2', 1ds), 4.98 (d,  $^3J_{\text{HP}} = 8.2$  Hz, 2H, H-a, 1ds), 4.93-4.79 (m, 10H, H-a, 3ds, OH-3'/2', 4ds), 4.66 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, 4H, H-a', 4ds), 4.47-4.42 (m, 8H, H-H, 4ds), 4.22-3.95 (m, 44H, H-3', H-4', H-5', H-5'', H-N, H-c', H-d', H-e', H-b', H-e'', 4ds), 3.87-3.77 (m, 24H, H-z, H-z', 4ds), 3.36 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.33 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.31 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.28 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>, 1ds), 3.06 (q,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 25H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.59-2.54 (m, 8H, H-g, 4ds), 1.67-1.59 (m, 16H, H-h, H-O, 4ds), 1.52 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz, 3H, H-y, 4ds), 1.46-1.39 (m, 9H, H-y, 3ds), 1.37-1.21 (m, 96H, H-P, H-Q, H-R, H-S, H-i, H-j, H-k, H-l, H-m, H-n, H-o, H-p, 4ds), 1.15 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 33H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88-0.82 (m, 24H, H-T, H-q, 4ds).

Weil es sich bei dem Produkt **158** um ein Gemisch aus vier Diastereomeren handelt, konnte das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum aufgrund der Komplexität und den überlagernden Signalen nur eingeschränkt ausgewertet werden. Zusätzlich wurden einige <sup>13</sup>C-Signale nur mit Hilfe des HSQC- und des HMPC-Spektrums zugeordnet bzw. konnten aufgrund der geringen Signalintensität durch die geringe Substanzmenge überhaupt nicht zugeordnet werden.

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.7 (C-f), 166.0 (C-G), 156.2 (C-6), 153.2 (C-M), 150.4 (C-e), 149.4 (C-L), 149.3, 149.2, 149.1 (C-4), 147.9 (C-u), 139.1 (C-8), 138.7 (C-s), 138.0 (C-l), 134.2 (C-C), 129.4 (C-F), 129.3 (C-J), 128.9, 128.8, 128.7 (C-c), 128.6 (C-E), 127.9 (C-D), 126.7 (C-B), 121.8, 121.7 (C-d), 120.9 (C-K), 119.0 (C-5), 108.7 (C-w), 107.4 (C-t), 85.6 (C-1'), 83.3 (C-d'), 82.8 (C-a'), 80.8 (C-4'), 78.1 (C-b'), 77.7 (C-3'), 76.5 (C-2'), 72.4 (C-x), 71.1 (C-c'), 68.4 (C-N), 68.3 (C-a), 65.8 (C-5', C-e'), 56.5 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.4 (C-z, C-z'), 46.0 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 42.2 (C-H), 33.4 (C-g), 31.3, 31.1, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (C-i, C-j, C-k, C-l, C-m, C-n, C-o, C-R), 28.3 (C-O), 28.0 (C-Q), 25.1 (C-P), 24.3 (C-h), 23.6, 23.4 (C-y), 22.1 (C-p), 22.0 (C-S), 14.0 (C-q), 13.9 (C-T), 8.6 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (243 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -2.7, -2.9, -3.2, -3.5 (P-2'), -11.1 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.4$  Hz, P-5'/P-e'), -11.4 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.4$  Hz, P-5'/P-e'); **HRMS** (ESI<sup>-</sup>, m/z): ber.: 1500.5081 [M-H]<sup>-</sup>, gef.: 1500.5084 [M-H]<sup>-</sup>.

#### Darstellung von Benzamid-3'-OMe-MASTER-NADP (184)

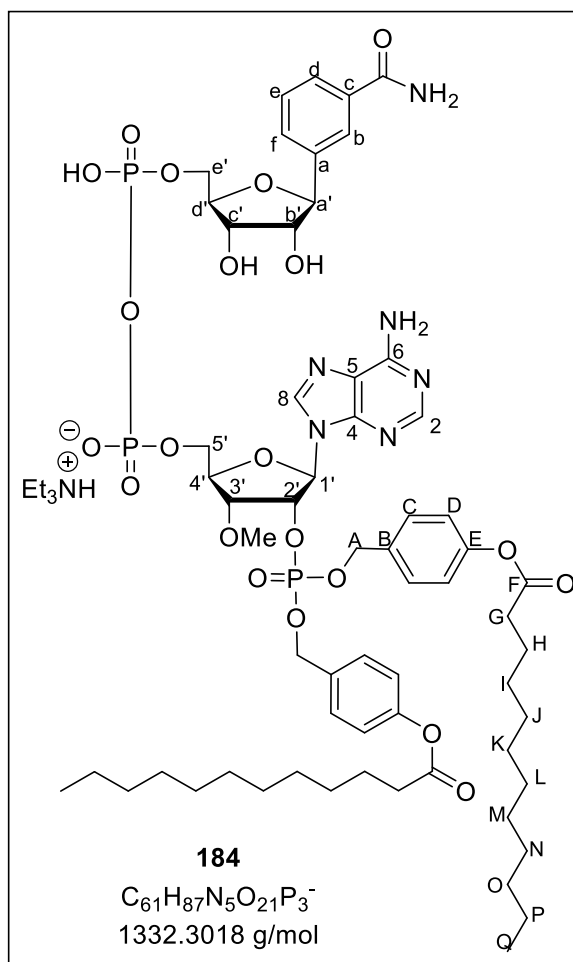
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 40  $\mu$ L Triethylamin (29 mg, 0.30 mmol, 24 Äquiv.) in 1.0 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst. Es wurden 25  $\mu$ L Trifluoressigsäureanhydrid (38 mg, 0.18 mmol, 15 Äquiv.) bei 0 °C zugetropft und die Lösung wurde für 10 min bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde anschließend bei 0 °C zu einer Lösung aus 13 mg der Verbindung **179** (0.012 mmol, 1.0 Äquiv.) in 2.5 mL abs. CH<sub>3</sub>CN getropft, es wurde mit 0.9 mL CH<sub>3</sub>CN nachgespült. Nach 20 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde für 12 min unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in 3.0 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst und mit 25  $\mu$ L

Triethylamin (18 mg, 0.18 mmol, 15 Äquiv.) versetzt. Nach dem Zutropfen von 9  $\mu\text{L}$  1-Methylimidazol (9 mg, 0.1 mmol, 9 Äquiv.) wurde die Lösung für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung aus 5.3 mg der Verbindung **185** (0.012 mmol, 1 Äquiv.) in 1.7 mL abs.  $\text{CH}_3\text{CN}$  wurde zur Reaktionslösung getropft. Nach 6 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels automatisierter Säulenchromatographie an RP-18-Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute wurde bezogen auf 1.3 Äquivalente Triethylammonium-Gegenionen berechnet, deren Anteil durch das  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt wurde. Die verbleibende Ladung wurde durch 0.6 Äquivalent Protonen ausgeglichen.

**Ausbeute:** 5.1 mg (3  $\mu\text{mol}$ , 29 %) eines farblosen amorphen Feststoffes.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):

8.46 (s, 1H, H-8), 8.15 (s, 1H, H-2), 7.98-7.94 (m, 1H, H-b), 7.80-7.75 (m, 1H, H-d), 7.53-7.46 (m, 1H, H-f), 7.43-7.19 (m, 5H, H-e, H-C, H-C'), 7.10-7.01 (m, 4H, H-D, H-D'), 6.21 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, 1H, H-1'), 5.62-5.50 (m, 1H, H-2'), 5.03-4.93 (m, 2H, H-A), 4.92-4.75 (m, 2H, H-A'), 4.64 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 1H, H-a'), 4.33-4.13 (m, 4H, H-4', H-3', H-5', H-5''), 4.12-3.94 (m, 5H, H-c', H-e', H-e'', H-b', H-d'), 3.18-3.02 (m, 8H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 2.60-2.53 (m, 4H, H-G, H-G'), 1.69-1.57 (m, 4H, H-H, H-H'), 1.39-1.21 (m, 32H, H-I, H-I', H-K, H-K', H-J, H-J', H-L, H-L', H-M, H-M', H-N, H-N', H-O, H-O', H-P, H-P'), 1.18 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 8H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.90-0.82 (m, 9H, H-Q, H-Q');  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (121 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): -1.9 (P-2'), -11.1 (s, P-5'/P-e'), -11.2 (s, P-5'/P-e'); **HRMS** (ESI, m/z): ber.: 1331.5070  $[\text{M-H}]^-$ , gef.: 1331.5057  $[\text{M-H}]^-$ .



## 8 Literaturverzeichnis

- [1] Müller, W. Tier- und Humanphysiologie, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2004**, S. 263-272.
- [2] Stryer, L.; Tymoczko, J. L.; Berg, J. M. Biochemie, 7. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2014**, S. 404-406, 993-1022.
- [3] Newton, A. C.; Bootman, M. D.; Scott, J. D. Second messengers, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2016**, *8*.
- [4] Dammermann, W. Mechanismen der Signaltransduktion durch Calcium-Ionen in CD4+T-Lymphocyten der Ratte und des Menschen, Dissertation, Universität Hamburg, **2007**.
- [5] Jurkat-Rott, K.; Lerche, H.; Lehmann-Horn, F. Muskuläre Kanalopathien. Myotonien und periodische Paralysen, *Der Nervenarzt* **2011**, *82*, 511-520.
- [6] Guse, A. H.; Roth, E.; Emmrich, F. Intracellular Ca<sup>2+</sup> pools in Jurkat T-lymphocytes, *Biochem. J.* **1993**, *291*, 447–451.
- [7] Cancela, J. M.; Gerasimenko, O. V.; Gerasimenko, J. V.; Tepikin, A. V.; Petersen, O. H. Two different but converging messenger pathways to intracellular Ca<sup>2+</sup> release: the roles of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate, cyclic ADP-ribose and inositol trisphosphate, *EMBO J.* **2000**, *19*, 2549–2557.
- [8] Berg, I.; Potter, B. V.; Mayr, G. W.; Guse, A. H. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP<sup>+</sup>) is an essential regulator of T-lymphocyte Ca<sup>2+</sup>-signaling, *J. Cell Biol.* **2000**, *150*, 581–588.
- [9] Fliegert, R.; Heeren, J.; Koch-Nolte, F.; Nikolaev, V. O.; Lohr, C.; Meier, C.; Guse, A. H. Adenine nucleotides as paracrine mediators and intracellular second messengers in immunity and inflammation, *Biochem. Soc. Trans.* **2019**, *47*, 329–337.
- [10] Boittin, F.-X.; Galione, A.; Evans, A. M. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate mediates Ca<sup>2+</sup> signals and contraction in arterial smooth muscle via a two-pool mechanism, *Circ. Res.* **2002**, *91*, 1168–1175.
- [11] Wolf, I. M. A.; Diercks, B.-P.; Gattkowsky, E.; Czarniak, F.; Kempinski, J.; Werner, R.; Schetelig, D.; Mittrücker, H.-W.; Schumacher, V.; Osten, M. von; Lodygin, D.; Flügel, A.; Fliegert, R.; Guse, A. H. Frontrunners of T cell activation: Initial, localized Ca<sup>2+</sup> signals mediated by NAADP and the type 1 ryanodine receptor, *Sci. Signal.* **2015**, *8*, ra102.

- [12] Valentino, S. J. Prodrugs as therapeutics, *Expert Opinion on Therapeutic Patents* **2004**, *14*, 277–280.
- [13] Huttunen, K. M.;Raunio, H.;Rautio, J. Prodrugs-from serendipity to rational design, *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 750–771.
- [14] Ruthenbeck, A. Functionalized prodrugs of a bacterial RNAP-Inhibitor and bio-reversibly masked purinic 2nd messenger derivatives associated with Ca<sup>2+</sup> signaling, Dissertation, Universität Hamburg, **2018**.
- [15] Dekiert, P. Synthese von membranpermeablen, chemisch stabilisierten NAADP-Derivaten, Dissertation, Universität Hamburg, **2021**.
- [16] Hinterding, K.;Alonso-Díaz, D.;Waldmann, H. Organische Synthese und biologische Signaltransduktion, *Angewandte Chemie + Int. Ed.* **1998**, *110*, 716–780.
- [17] Thews, G. Vegetative Physiologie, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **1997**, S.17-22.
- [18] Bruhn, S. NAADP, CD38 und Ca<sup>2+</sup>-Signalling: Komplexes Wechselspiel bei der Aktivierung von T-Lymphozyten, Dissertation, Universität Hamburg, **2008**.
- [19] Mueller, P.;Massner, J.;Jayachandran, R.;Combaluzier, B.;Albrecht, I.;Gatfield, J.;Blum, C.;Ceredig, R.;Rodewald, H.-R.;Rolink, A. G.;Pieters, J. Regulation of T cell survival through coronin-1-mediated generation of inositol-1,4,5-trisphosphate and calcium mobilization after T cell receptor triggering, *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 424–431.
- [20] Kasai, M.;Kawasaki, T.;Yamaguchi, N. Regulation of the ryanodine receptor calcium release channel: a molecular complex system, *Biophys. Chem.* **1999**, *82*, 173–181.
- [21] Berridge, M. J.;Lipp, P.;Bootman, M. D. The versatility and universality of calcium signalling, *Nat. Rev. Mol. Cell Bio.* **2000**, *1*, 11–21.
- [22] Nebel, M. Die Bedeutung von NAADP für die Ca<sup>2+</sup>-Signalgebung von T-Zellen der Ratte und ventrikuläre Cardiomyozyten der Maus, Dissertation, Universität Hamburg, **2011**.
- [23] Bers, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling, *Nature* **2002**, *415*, 198–205.
- [24] Guse, A. H.;Da Silva, C. P.;Berg, I.;Skapenko, A. L.;Weber, K.;Heyer, P.;Hohenegger, M.;Ashamu, G. A.;Schulze-Koops, H.;Potter, B. V.;Mayr, G. W. Regulation of calcium signalling in T lymphocytes by the second messenger cyclic ADP-ribose, *Nature* **1999**, *398*, 70–73.

- [25] Gasser, A.;Bruhn, S.;Guse, A. H. Second messenger function of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate revealed by an improved enzymatic cycling assay, *J Biol Chem* **2006**, *281*, 16906–16913.
- [26] Galione, A. NAADP receptors, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2019**, *11*.
- [27] Guse, A. H.;Diercks, B.-P. Integration of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP)-dependent calcium signalling, *J. Physiol.* **2018**, *596*, 2735–2743.
- [28] Clapper, D. L.;Walseth, T. F.;Dargie, P. J.;Lee, H. C. Pyridine nucleotide metabolites stimulate calcium release from sea urchin egg microsomes desensitized to inositol trisphosphate, *J Biol Chem* **1987**, *262*, 9561–9568.
- [29] Lee, H. C.;Aarhus, R. A derivative of NADP mobilizes calcium stores insensitive to inositol trisphosphate and cyclic ADP-ribose, *J Biol Chem* **1995**, *270*, 2152–2157.
- [30] Chini, E. N.;Beers, K. W.;Dousa, T. P. Nicotinate adenine dinucleotide phosphate (NAADP) triggers a specific calcium release system in sea urchin eggs, *J Biol Chem* **1995**, *270*, 3216–3223.
- [31] Santella, L.;Kyojuka, K.;Genazzani, A. A.;Riso, L. de;Carafoli, E. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate-induced Ca<sup>2+</sup> release. Interactions among distinct Ca<sup>2+</sup> mobilizing mechanisms in starfish oocytes, *J Biol Chem* **2000**, *275*, 8301–8306.
- [32] Cancela, J. M.;Churchill, G. C.;Galione, A. Coordination of agonist-induced Ca<sup>2+</sup>-signalling patterns by NAADP in pancreatic acinar cells, *Nature* **1999**, *398*, 74–76.
- [33] Guse, A. H. NAADP-evoked Ca<sup>2+</sup> signaling: The DUOX2-HN1L/JPT2-ryanodine receptor 1 axis, *Handbook of experimental pharmacology* **2023**, *278*, 57–70.
- [34] Guse, A. H. NAADP signaling: new kids on the block, *Cell* **2022**, *11*.
- [35] Genazzani, A. A.;Galione, A. Nicotinic acid-adenine dinucleotide phosphate mobilizes Ca<sup>2+</sup> from a thapsigargin-insensitive pool, *Biochem. J.* **1996**, *315 (Pt 3)*, 721–725.
- [36] Patel, S.;Docampo, R. Acidic calcium stores open for business: expanding the potential for intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling, *Trends Cell Biol.* **2010**, *20*, 277–286.
- [37] Galione, A.;Davis, L. C.;Martucci, L. L.;Morgan, A. J. NAADP-mediated Ca<sup>2+</sup> signalling, *Handb Exp Pharmacol.* **2023**, *278*, 57–70.
- [38] Marchant, J. S.;Gunaratne, G. S.;Cai, X.;Slama, J. T.;Patel, S. NAADP-binding proteins find their identity, *Trends Biochem. Sci.* **2022**, *47*, 235–249.

- [39] Aarhus, R.;Dickey, D. M.;Graeff, R. M.;Gee, K. R.;Walseth, T. F.;Lee, H. C. Activation and inactivation of  $\text{Ca}^{2+}$  release by NAADP<sup>+</sup>, *J. Biol. Chem* **1996**, *271*, 8513–8516.
- [40] Genazzani, A. A.;Empson, R. M.;Galione, A. Unique inactivation properties of NAADP-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  release, *J Biol Chem* **1996**, *271*, 11599–11602.
- [41] Yamasaki, M.;Churchill, G. C.;Galione, A. Calcium signalling by nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP), *FEBS J.* **2005**, *272*, 4598–4606.
- [42] Lee, H. C.;Aarhus, R. Structural determinants of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate important for its calcium-mobilizing activity, *J Biol Chem* **1997**, *272*, 20378–20383.
- [43] Billington, R. A.;Tron, G. C.;Reichenbach, S.;Sorba, G.;Genazzani, A. A. Role of the nicotinic acid group in NAADP receptor selectivity, *Cell calcium* **2005**, *37*, 81–86.
- [44] Trabbic, C.;Walseth, T. F.;Slama, J. T. Synthesis, Biochemical Activity, and Structure-Activity Relationship Among Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate (NAADP) Analogs, *messenger* **2012**, *1*, 108–120.
- [45] Trabbic, C. J.;Zhang, F.;Walseth, T. F.;Slama, J. T. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate analogues substituted on the nicotinic acid and adenine ribosides. Effects on receptor mediated  $\text{Ca}^{2+}$  release, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3593–3610.
- [46] Lee, H. C.;Aarhus, R. Fluorescent analogs of NAADP with calcium mobilizing activity, *BBA* **1998**, *1425*, 263–271.
- [47] Jain, P.;Slama, J. T.;Perez-Haddock, L. A.;Walseth, T. F. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate analogues containing substituted nicotinic acid: effect of modification on  $\text{Ca}^{2+}$  release, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7599–7612.
- [48] Billington, R. A.;Genazzani, A. A. Characterization of NAADP<sup>+</sup> binding in sea urchin eggs, *Biochem. Biophys. Res. Com.* **2000**, *276*, 112–116.
- [49] Campbell, N. A.; Reece, J. *Biologie*, 8. Auflage, Pearson Studium, München, **2009**.
- [50] Müller-Esterl, W. *Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 3. Auflage, Springer Spektrum, Heidelberg, **2017**, S.515-517.
- [51] Guse, A. H. 25 Years of Collaboration with A Genius: Deciphering Adenine Nucleotide  $\text{Ca}^{2+}$  Mobilizing Second Messengers Together with Professor Barry Potter, *Molecules* **2020**, *25*.

- [52] Feske, S. Calcium signalling in lymphocyte activation and disease, *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7*, 690–702.
- [53] Heßling, L. D.; Troost-Kind, B.; Weiß, M. NAADP-binding proteins - linking NAADP signaling to cancer and immunity, *BBA* **2023**, *1870*, 119531.
- [54] Vollmar, A.; Zündorf, I.; Dingermann, T. Immunologie - Grundlagen und Wirkstoffe - , 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **2013**, S. 126-128.
- [55] Deo, M.; Weinberg, S. H.; Boyle, P. M. Calcium dynamics and cardiac arrhythmia, *Clin. Med. Insights Cardiol.* **2017**, *11*, 1179546817739523.
- [56] Wappler, F.; Tonner, P. H.; Bürkle, H. Anästhesie und Begleiterkrankungen, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2011**, S. 487 - 488.
- [57] Scotto Rosato, A.; Montefusco, S.; Soldati, C.; Di Paola, S.; Capuozzo, A.; Monfregola, J.; Polishchuk, E.; Amabile, A.; Grimm, C.; Lombardo, A.; Matteis, M. A. de; Ballabio, A.; Medina, D. L. TRPML1 links lysosomal calcium to autophagosome biogenesis through the activation of the CaMKK $\beta$ /VPS34 pathway, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 5630.
- [58] Cordiglieri, C.; Odoardi, F.; Zhang, B.; Nebel, M.; Kawakami, N.; Klinkert, W. E. F.; Lodygin, D.; Lühder, F.; Breunig, E.; Schild, D.; Ulaganathan, V. K.; Dornmair, K.; Dammermann, W.; Potter, B. V. L.; Guse, A. H.; Flügel, A. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate-mediated calcium signalling in effector T cells regulates autoimmunity of the central nervous system, *Brain* **2010**, *133*, 1930–1943.
- [59] Aarhus, R.; Graeff, R. M.; Dickey, D. M.; Walseth, T. F.; Lee, H. C. ADP-ribosyl cyclase and CD38 catalyze the synthesis of a calcium-mobilizing metabolite from NADP, *J. Biol. Chem* **1995**, *270*, 30327–30333.
- [60] Fang, C.; Li, T.; Li, Y.; Xu, G. J.; Deng, Q. W.; Chen, Y. J.; Hou, Y. N.; Lee, H. C.; Zhao, Y. J. CD38 produces nicotinic acid adenosine dinucleotide phosphate in the lysosome, *J Biol Chem* **2018**, *293*, 8151–8160.
- [61] Soares, S.; Thompson, M.; White, T.; Isbell, A.; Yamasaki, M.; Prakash, Y.; Lund, F. E.; Galione, A.; Chini, E. N. NAADP as a second messenger: neither CD38 nor base-exchange reaction are necessary for in vivo generation of NAADP in myometrial cells, *Am. J. Physiol.* **2007**, *292*, C227-39.
- [62] Gu, F.; Krüger, A.; Roggenkamp, H. G.; Alpers, R.; Lodygin, D.; Jaquet, V.; Möckl, F.; Hernandez C, L. C.; Winterberg, K.; Bauche, A.; Rosche, A.; Grasberger, H.; Kao, J. Y.; Schetelig, D.; Werner, R.; Schröder, K.; Carty, M.; Bowie, A. G.; Huber, S.; Meier, C.; Mittrücker, H.-W.; Heeren, J.; Krause, K.-H.; Flügel, A.; Diercks, B.-P.; Guse, A. H.

- Dual NADPH oxidases DUOX1 and DUOX2 synthesize NAADP and are necessary for Ca<sup>2+</sup> signaling during T cell activation, *Sci. Signal.* **2021**, *14*, eabe3800.
- [63] DiAntonio, A.;Milbrandt, J.;Figley, M. D. The SARM1 TIR NADase: mechanistic similarities to bacterial phage defense and toxin-antitoxin systems, *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 752898.
- [64] Zhao, Y. J.;He, W. M.;Zhao, Z. Y.;Li, W. H.;Wang, Q. W.;Hou, Y. N.;Tan, Y.;Zhang, D. Acidic pH irreversibly activates the signaling enzyme SARM1, *FEBS J.* **2021**, *288*, 6783–6794.
- [65] Gu, F. Dual NADPH oxidase 2-the NAADP forming enzyme in T cells, Dissertation, **2022**.
- [66] Guse, A. H. Linking NAADP to ion channel activity: a unifying hypothesis, *Sci. Signal.* **2012**, *5*, pe18.
- [67] Guse, A. H. Calcium mobilizing second messengers derived from NAD, *BBA* **2015**, *1854*, 1132–1137.
- [68] Roggenkamp, H. G.;Khansahib, I.;Hernandez C, L. C.;Zhang, Y.;Lodygin, D.;Krüger, A.;Gu, F.;Möckl, F.;Löhndorf, A.;Wolters, V.;Woike, D.;Rosche, A.;Bauche, A.;Schetelig, D.;Werner, R.;Schlüter, H.;Failla, A. V.;Meier, C.;Fliegert, R.;Walseth, T. F.;Flügel, A.;Diercks, B.-P.;Guse, A. H. HN1L/JPT2: A signaling protein that connects NAADP generation to Ca<sup>2+</sup> microdomain formation, *Sci. Signal.* **2021**, *14*.
- [69] Gunaratne, G. S.;Brailoiu, E.;He, S.;Unterwald, E. M.;Patel, S.;Slama, J. T.;Walseth, T. F.;Marchant, J. S. Essential requirement for JPT2 in NAADP-evoked Ca<sup>2+</sup> signaling, *Sci. Signal.* **2021**, *14*.
- [70] Zhang, J.;Guan, X.;Shah, K.;Yan, J. Lsm12 is an NAADP receptor and a two-pore channel regulatory protein required for calcium mobilization from acidic organelles, *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 4739.
- [71] Trebak, M.;Kinet, J.-P. Calcium signalling in T cells, *Nat. Rev. Immunol.* **2019**, *19*, 154–169.
- [72] Woehrle, T.;Ledderose, C.;Rink, J.;Slubowski, C.;Junger, W. G. Autocrine stimulation of P2Y1 receptors is part of the purinergic signaling mechanism that regulates T cell activation, *Purinergic Signal.* **2019**, *15*, 127–137.
- [73] Diercks, B.-P.;Werner, R.;Weidemüller, P.;Czarniak, F.;Hernandez, L.;Lehmann, C.;Rosche, A.;Krüger, A.;Kaufmann, U.;Vaeth, M.;Failla, A. V.;Zobiak, B.;Kandil, F. I.;Schetelig, D.;Ruthenbeck, A.;Meier, C.;Lodygin, D.;Flügel, A.;Ren, D.;Wolf, I. M.

- A.;Feske, S.;Guse, A. H. ORA1, STIM1/2, and RYR1 shape subsecond Ca<sup>2+</sup> microdomains upon T cell activation, *Sci. Signal.* **2018**, *11*.
- [74] Krukenberg, S.;Möckl, F.;Weiß, M.;Dekiert, P.;Hofmann, M.;Gerlach, F.;Winterberg, K. J.;Kovacevic, D.;Khansahib, I.;Troost, B.;Hinrichs, M.;Granato, V.;Nawrocki, M.;Hub, T.;Tsvilovsky, V.;Medert, R.;Woelk, L.-M.;Förster, F.;Li, H.;Werner, R.;Altfeld, M.;Huber, S.;Clarke, O. B.;Freichel, M.;Diercks, B.-P.;Meier, C.;Guse, A. H. MASTER-NAADP: a membrane permeable precursor of the Ca<sup>2+</sup> mobilizing second messenger NAADP, *Nat. Commun.* **2024**, *15*, 8008.
- [75] Weaver, J. C. Electroporation: a general phenomenon for manipulating cells and tissues, *J. Cell. Biochem.* **1993**, *51*, 426–435.
- [76] Gollnest, T.;Oliveira, T. D. de;Schols, D.;Balzarini, J.;Meier, C. Lipophilic prodrugs of nucleoside triphosphates as biochemical probes and potential antivirals, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8716.
- [77] Pradere, U.;Garnier-Amblard, E. C.;Coats, S. J.;Amblard, F.;Schinazi, R. F. Synthesis of nucleoside phosphate and phosphonate prodrugs, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 9154–9218.
- [78] Parkesh, R.;Lewis, A. M.;Aley, P. K.;Arredouani, A.;Rossi, S.;Tavares, R.;Vasudevan, S. R.;Rosen, D.;Galione, A.;Dowden, J.;Churchill, G. C. Cell-permeant NAADP: a novel chemical tool enabling the study of Ca<sup>2+</sup> signalling in intact cells, *Cell calcium* **2008**, *43*, 531–538.
- [79] Galione, A.;Chuang, K.-T.;Funnell, T. M.;Davis, L. C.;Morgan, A. J.;Ruas, M.;Parrington, J.;Churchill, G. C. Synthesis of NAADP-AM as a membrane-permeant NAADP analog, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2014**, *2014*, pdb.prot076927.
- [80] Iyer, R. P.;Phillips, L. R.;Biddle, J. A.;Thakker, D. R.;Egan, W.;Aoki, S.;Mitsuya, H. Synthesis of acyloxyalkyl acylphosphonates as potential prodrugs of the antiviral, trisodium phosphonoformate (foscarnet sodium), *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 7141–7144.
- [81] Srivastva, D. N.;Farquhar, D. Bioreversible phosphate protective groups: synthesis and stability of model acyloxymethyl phosphates, *Bioorg. Chem.* **1984**, *12*, 118–129.
- [82] Freeman, S.;Irwin, W. J.;Mitchell, A. G.;Nicholls, D.;Thomson, W. Bioreversible protection for the phospho group: chemical stability and bioactivation of di(4-acetoxybenzyl) methylphosphonate with carboxyesterase, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 875.

- [83] Thomson, W.;Nicholls, D.;Irwin, W. J.;Al-Mushadani, J. S.;Freeman, S.;Karpas, A.;Petrik, J.;Mahmood, N.;Hay, A. J. 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.
- [84] Jessen, H. J.;Schulz, T.;Balzarini, J.;Meier, C. Bioreversible protection of nucleoside diphosphates, *Angew. Chem.* **2008**, *47*, 8719–8722.
- [85] Meier, C.;Jessen, H. J.;Balzarini, J. Nucleoside diphosphate prodrugs, *Nucleic acids symp. ser.* **2008**, 83–84.
- [86] Weinschenk, L.;Gollnest, T.;Schols, D.;Balzarini, J.;Meier, C. Bis(benzoyloxybenzyl)-DiPPro nucleoside diphosphates of anti-HIV active nucleoside analogues, *ChemMedChem* **2015**, *10*, 891–900.
- [87] Gollnest, T. Das TriPPPPro Konzept: Entwicklung und Charakterisierung von antiviralen NucleosidtriphosphatProdrugs, Dissertation, Universität Hamburg, **2015**.
- [88] Fröbel, S.;Gilch, P. Femtochemistry of selected di-substituted benzenes, *J. Photochem. Photobiol. A* **2016**, *318*, 150–159.
- [89] Ellis-Davies, G. C. R. Caged compounds: photorelease technology for control of cellular chemistry and physiology, *Nat. Methods* **2007**, *4*, 619–628.
- [90] Walker, J. W.;McCray, J. A.;Hess, G. P. Photolabile protecting groups for an acetylcholine receptor ligand. Synthesis and photochemistry of a new class of o-nitrobenzyl derivatives and their effects on receptor function, *Biochem.* **1986**, *25*, 1799–1805.
- [91] Walker, J. W.;Somlyo, A. V.;Goldman, Y. E.;Somlyo, A. P.;Trentham, D. R. Kinetics of smooth and skeletal muscle activation by laser pulse photolysis of caged inositol 1,4,5-trisphosphate, *Nature* **1987**, *327*, 249–252.
- [92] Lee, H. C.;Aarhus, R.;Gee, K. R.;Kestner, T. Caged nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate. Synthesis and use, *J Biol Chem* **1997**, *272*, 4172–4178.
- [93] Kaplan, J. H.;Forbush, B.;Hoffman, J. F. Rapid photolytic release of adenosine 5'-triphosphate from a protected analogue: utilization by the Na:K pump of human red blood cell ghosts, *Biochem.* **1978**, *17*, 1929–1935.
- [94] Walker, J. W.;Gilbert, S. H.;Drummond, R. M.;Yamada, M.;Sreekumar, R.;Carraway, R. E.;Ikebe, M.;Fay, F. S. Signaling pathways underlying eosinophil cell motility revealed by using caged peptides, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **1998**, *95*, 1568–1573.

- [95] Ghosh, M.; Song, X.; Mouneimne, G.; Sidani, M.; Lawrence, D. S.; Condeelis, J. S. Cofilin promotes actin polymerization and defines the direction of cell motility, *Sci.* **2004**, *304*, 743–746.
- [96] Klán, P.; Šolomek, T.; Bochet, C. G.; Blanc, A.; Givens, R.; Rubina, M.; Popik, V.; Kostikov, A.; Wirz, J. Photoremovable protecting groups in chemistry and biology: reaction mechanisms and efficacy, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 119–191.
- [97] Šolomek, T.; Bochet, C. G.; Bally, T. The primary steps in excited-state hydrogen transfer: the phototautomerization of o-nitrobenzyl derivatives, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 8062–8067.
- [98] Barltrop, J. A.; Plant, P. J.; Schofield, P. Photosensitive protective groups, *Chem. Commun* **1966**, 822.
- [99] Patchornik, A.; Amit, B.; Woodward, R. B. Photosensitive protecting groups, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 6333–6335.
- [100] Dynamic Studies in Biology (Hrsg.: M. Goeldner und R. S. Givens), Wiley, **2005**.
- [101] Holmes, C. P. Model studies for new o-nitrobenzyl photolabile linkers: substituent effects on the rates of photochemical cleavage, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2370–2380.
- [102] Schneider, T. Synthese und Untersuchung von maskierten ADPR-Derivaten, Dissertation, Universität Hamburg, **2022**.
- [103] Jeschik, N. Synthese und Untersuchung diverser *photocaged* Adenosinverbindungen, Dissertation, Universität Hamburg, **2020**.
- [104] Il'ichev, Y. V.; Schwörer, M. A.; Wirz, J. Photochemical reaction mechanisms of 2-nitrobenzyl compounds: methyl ethers and caged ATP, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4581–4595.
- [105] Bochet, C. G. Photolabile protecting groups and linkers, *J. Chem. Soc.* **2002**, 125–142.
- [106] Schmierer, T.; Laimgruber, S.; Haiser, K.; Kiewisch, K.; Neugebauer, J.; Gilch, P. Femtosecond spectroscopy on the photochemistry of ortho-nitrotoluene, *PCCP* **2010**, *12*, 15653–15664.
- [107] Bley, F.; Schaper, K.; Görner, H. Photoprocesses of molecules with 2-nitrobenzyl protecting groups and caged organic acids, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *84*, 162–171.

- [108] Dunkin, I. R.; Gębicki, J.; Kiszka, M.; Sanín-Leira, D. Phototautomerism of o-nitrobenzyl compounds: o-quinonoid aci-nitro species studied by matrix isolation and DFT calculations†, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 1414–1425.
- [109] Yip, R. W.; Wen, Y. X.; Gravel, D.; Giasson, R.; Sharma, D. K. Photochemistry of the o-nitrobenzyl system in solution: identification of the biradical intermediate in the intramolecular rearrangement, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 6078–6081.
- [110] Hurley, R.; Testa, A. C. Triplet-state yield of aromatic nitro compounds, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1949–1952.
- [111] Takezaki, M.; Hirota, N.; Terazima, M. Nonradiative relaxation processes and electronically excited states of nitrobenzene studied by picosecond time-resolved transient grating method, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 3443–3448.
- [112] Parkesh, R.; Vasudevan, S. R.; Berry, A.; Galione, A.; Dowden, J.; Churchill, G. C. Chemo-enzymatic synthesis and biological evaluation of photolabile nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate NAADP<sup>+</sup>, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 441–443.
- [113] Hirayama, Y.; Iwamura, M.; Furuta, T. Design, synthesis and photochemical properties of caged bile acids, *Bioorganic. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 905–908.
- [114] Patel, S.; Gregori, M.; Yuan, Y. Teaming with NAADP, *Sci. Signal.* **2021**, *14*.
- [115] Shigematsu, M.; Kawamura, T.; Kirino, Y. Generation of 2',3'-cyclic phosphate-containing RNAs as a hidden layer of the transcriptome, *Front. Genet.* **2018**, *9*, 562.
- [116] Lönnberg, H. Cleavage of RNA phosphodiester bonds by small molecular entities: a mechanistic insight, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 1687–1703.
- [117] Liu, P.; Sharon, A.; Chu, C. K. Fluorinated Nucleosides: Synthesis and Biological Implication, *J. Fluor. Chem.* **2008**, *129*, 743–766.
- [118] Pankiewicz, K. W. Fluorinated nucleosides, *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87–105.
- [119] Liang, T.; Neumann, C. N.; Ritter, T. Introduction of fluorine and fluorine-containing functional groups, *Angew. Chem.* **2013**, *52*, 8214–8264.
- [120] Wu, J. Review of recent advances in nucleophilic C–F bond-forming reactions at sp<sup>3</sup> centers, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 4289–4294.
- [121] Bruice, P. Y. Organische Chemie, Studieren Kompakt, 5. Auflage, Pearson Studium, München, **2011**, S. 900-901.
- [122] Gerhard, E.; Peter, S. RÖMPP Lexikon Lebensmittelchemie, 2. Auflage, Thieme, **2006**, S. 1306.

- [123] Sinnott, M. Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2013**.
- [124] Cooperwood, J. S.; Boyd, V.; Gumina, G.; Chu, C. K. Synthesis of L-3'-hydroxymethylribonucleosides, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2000**, *19*, 219–236.
- [125] Roy, V.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Laumond, G.; Aubertin, A. M. Synthesis and antiviral evaluation of AZT analogues with A spacer arm between glucidic and base moieties. Part II, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2007**, *26*, 413–421.
- [126] Li, C.; Ding, H.; Ruan, Z.; Zhou, Y.; Xiao, Q. First total synthesis of kipukasin A, *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, *13*, 855–862.
- [127] Roehn, U.; Schmitt-Willich, H.; Heinrich, T.; Berger, M.; Fitzner, A.; Krause, S.; Brockschnieder, D.; Dyrks, T.; Thiele, A.; Moenning, U. Preparation of benzothiazolopyrazoles and thiazolopyridin-pyrazoles that bind to amyloid plaques and their use in diagnosis and treatment, Publication date 2012/01/19, WO 2012/007510 A1.
- [128] Chou, T. S.; Becke, L. M.; O'Toole, J. C.; Carr, M.; Parker, B. E. Triethylamine poly(hydrogen fluorides) in the synthesis of a fluorinated nucleoside glycon, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 17–20.
- [129] Soueidan, O.-M.; Trayner, B. J.; Grant, T. N.; Henderson, J. R.; Wuest, F.; West, F. G.; Cheeseman, C. I. New fluorinated fructose analogs as selective probes of the hexose transporter protein GLUT5, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 6511–6521.
- [130] Middleton, W. J. New fluorinating reagents. Dialkylaminosulfur fluorides, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 574–578.
- [131] De, S.; Jonghe, S. de; Herdewijn, P. Synthesis of a 3'-fluoro-3'-deoxytetrose adenine phosphonate, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 9464–9478.
- [132] Kumar, M.; Kumar, R.; Rana, N.; Prasad, A. K. Synthesis of 3'-azido/-amino-xylobicyclonucleosides, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 17713–17719.
- [133] Krohn, K.; Heins, H.; Wielckens, K. Synthesis and cytotoxic activity of C-glycosidic nicotinamide riboside analogues, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 511–517.
- [134] Mikhailopulo, I. A.; Sivets, G. G. A novel route for the synthesis of deoxy fluoro sugars and nucleosides, *HCA* **1999**, *82*, 2052–2065.
- [135] Sivets, G. G.; Amblard, F.; Schinazi, R. F. Synthesis of 2-fluoro-substituted and 2,6-modified purine 2',3'-dideoxy-2',3'-difluoro-d-arabinofuranosyl nucleosides from d-xylose, *Tetrahedron* **2019**, *75*, 2037–2046.

- [136] Szarek, W. A.;Zamojski, A.;Tiwari, K. N.;Ison, E. R. A new, facile method for cleavage of acetals and dithioacetals in carbohydrate derivatives, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3827–3830.
- [137] Ramil F. Fatykhov;Oleg N. Chupakhin;Vladimir L. Rusinov;Igor A. Khalymbadzha, in: *Copper in N-heterocyclic chemistry* (Hrsg.: Ananya Srivastava), Elsevier, **2021**, 161–220.
- [138] Vorbrüggen, H.;Lagoja, I. M.;Herdewijn, P. Synthesis of ribonucleosides by condensation using trimethylsilyl triflate, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2007**, *Chapter 1*, Unit 1.13.
- [139] Vorbrüggen, H.;Ruh-Pohlentz, C., in: *Organic reactions* (Hrsg.: S. E. Denmark), Wiley, **2004**, 1–630.
- [140] Pahnke, K. Synthese funktionalisierter Zuckernucleotide und deren Anwendbarkeit als biologische Tools, Dissertation, Universität Hamburg, **2017**.
- [141] Weinschenk, L. DiPPro-Nucleotide mit asymmetrischer Maskierung der Pyrophosphateinheit, Dissertation, Universität Hamburg, **2015**.
- [142] Sanghvi, Y. S.;Guo, Z.;Pfundheller, H. M.;Converso, A. Improved process for the preparation of nucleosidic phosphoramidites using a safer and cheaper activator, *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *4*, 175–181.
- [143] Yoshikawa, M.;Kato, T.;Takenishi, T. A novel method for phosphorylation of nucleosides to 5'-nucleotides, *Tetrahedron Lett.* **1967**, *50*, 5065–5068.
- [144] Yoshikawa, M.;Kato, T.;Takenishi, T. Studies of phosphorylation. III. Selective phosphorylation of unprotected nucleosides, *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1969**, *42*, 3505–3508.
- [145] Meyers, A. I.;Mihelich, E. D. The synthetic utility of 2-oxazolines, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1976**, *15*, 270–281.
- [146] Butkevich, A. N. Modular synthetic approach to silicon-rhodamine homologues and analogues via bis-aryllanthanum reagents, *Org. Lett.* **2021**, *23*, 2604–2609.
- [147] Stevens, A. C.;Brak, K.;Bremner, W. S.;Brown, A. M.;Chtchemeline, A.;Heumann, L.;Kerschen, J. A.;Subotkowski, W.;Vieira, T.;Wolfe, L. C.;Xu, B.;Yu, C.-Y. Development of a scalable lanthanide halide/quaternary ammonium salt system for the nucleophilic addition of grignard reagents to carbonyl groups and application to the synthesis of a remdesivir intermediate, *Org. Process Res. Dev.* **2022**, *26*, 754–763.

- [148] Larsen, C. H.;Ridgway, B. H.;Shaw, J. T.;Smith, D. M.;Woerpel, K. A. Stereoselective C-glycosylation reactions of ribose derivatives: electronic effects of five-membered ring oxocarbenium ions, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10879–10884.
- [149] Inanaga, J.;Hirata, K.;Saeki, H.;Katsuki, T.;Yamaguchi, M. A rapid esterification by means of mixed anhydride and its application to large-ring lactonization, *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1979**, *52*, 1989–1993.
- [150] IKEMOTO, T.;HAZE, A.;HATANO, H.;KITAMOTO, Y.;ISHIDA, M.;NARA, K. Phosphorylation of nucleosides with phosphorus oxychloride in trialkyl phosphate, *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 210–215.
- [151] Mohamady, S.;Jakeman, D. L. An improved method for the synthesis of nucleoside triphosphate analogues, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10588–10591.
- [152] Witt, J. Synthese fluoreszenzmarkierter TriPPPPro-Verbindungen für Zellaufnahmestudien und Synthese antitumoraler TriPPPPro-Prodrugs, Dissertation, **2022**.
- [153] Parsch, J.;Engels, J. W. C-F...H-C hydrogen bonds in ribonucleic acids, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5664–5672.
- [154] Hofmann, M. Totalsynthese chemisch stabilisierter und lipophil maskierter NAADP-Derivate, Dissertation, Universität Hamburg, **2025**.
- [155] Hyde, R. M.;Broom, A. D.;Buckheit, R. W. Antiviral amphipathic oligo- and polyribonucleotides: analogue development and biological studies, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1878–1885.
- [156] Meier, C.;Huynh-Dinh, T. Improved conversion of adenosine to 3'-deoxyadenosine, *Synlett* **1991**, *1991*, 227–228.
- [157] Nguyen-Trung, N. Q.;Botta, O.;Terenzi, S.;Strazewski, P. A practical route to 3'-amino-3'-deoxyadenosine derivatives and puromycin analogues, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2038–2041.
- [158] Halligan, K.;Nair, V. A highly efficient procedure for the oxidation of the 5'-position of adenosine analogues, *Arkivoc* **2006**, *2006*, 101–106.
- [159] Kicsák, M.;Mándi, A.;Varga, S.;Herczeg, M.;Batta, G.;Bényei, A.;Borbás, A.;Herczegh, P. Tricyclanos: conformationally constrained nucleoside analogues with a new heterotricycle obtained from a d-ribofuranose unit, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 393–401.








- [160] Trzuppek, J. D.; Sheppard, T. L. Photochemical generation of ribose abasic sites in RNA oligonucleotides, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1493–1496.
- [161] Allerson, C. R.; Chen, S. L.; Verdine, G. L. A chemical method for site-specific modification of RNA: The convertible nucleoside approach, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7423–7433.
- [162] YOSHIMURA, Y.; SANO, T.; MATSUDA, A.; UEDA, T. Synthesis of 6,3'-methanocytidine, 6,3'-methanouridine, and their 2'-deoxyribonucleosides (nucleosides and nucleotides. LXXVII), *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 162–167.
- [163] Zhong, B.; Sun, L.; Wei, Q.; DAI, Y.; Chen, C.; Chen, Z. Cyclic di-nucleotide compounds and methods of use, Publication date 2017/09/21, WO 2017/161349.
- [164] Neises, B.; Steglich, W. Einfaches Verfahren zur Veresterung von Carbonsäuren, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556–557.
- [165] Carpino, L. A.; Imazumi, H.; El-Faham, A.; Ferrer, F. J.; Zhang, C.; Lee, Y.; Foxman, B. M.; Henklein, P.; Hanay, C.; Mügge, C.; Wenschuh, H.; Klose, J.; Beyermann, M.; Bienert, M. The uronium/guanidinium peptide coupling reagents: finally the true uronium salts, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 441–445.
- [166] Abdelmoty, I.; Albericio, F.; Carpino, L. A.; Foxman, B. M.; Kates, S. A. Structural studies of reagents for peptide bond formation: Crystal and molecular structures of HBTU and HATU, *Lett Pept Sci* **1994**, *1*, 57–67.
- [167] Valeur, E.; Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606–631.
- [168] Shome, A.; Jha, K. T.; Chawla, P. A. Hexafluorophosphate azabenzotriazole tetramethyl uronium (HATU): a unique cross-coupling reagent, *SynOpen* **2023**, *07*, 566–569.
- [169] Vrettos, E. I.; Sayyad, N.; Mavrogiannaki, E. M.; Stylos, E.; Kostagianni, A. D.; Papas, S.; Mavromoustakos, T.; Theodorou, V.; Tzakos, A. G. Unveiling and tackling guanidinium peptide coupling reagent side reactions towards the development of peptide-drug conjugates, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 50519–50526.
- [170] Vukadinović, D.; Böge, N. P. H.; Balzarini, J.; Meier, C. "Lock-in" modified cyclosal nucleotide—the second generation of cyclosal prodrugs, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2005**, *24*, 939–942.
- [171] Jessen, H. J. Untersuchungen zur intrazellulären Freisetzung von Nucleosidphosphaten, Dissertation, Universität Hamburg, **2008**.










- [172] Jeschik, N.;Schneider, T.;Meier, C. Photocaged and mixed photocaged bioreversible-protected ATP derivatives as tools for the controlled release of ATP, *Eur J Org Chem* **2020**, 2020, 6776–6789.
- [173] Amézqueta, S.;Subirats, X.;Fuguet, E.;Rosés, M.;Ràfols, C., in: *Liquid-Phase Extraction*, Elsevier, **2020**, 183–208.
- [174] Lombardo, F.;Shalaeva, M. Y.;Tupper, K. A.;Gao, F. ElogD(oct): a tool for lipophilicity determination in drug discovery. 2. Basic and neutral compounds, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2490–2497.
- [175] Sangster, J. Octanol-water partition coefficients, Wiley, Chichester, **1997**.









## 9 Gefahrstoffverzeichnis









### 9.1 Verwendete Gefahrstoffe









In der folgenden Tabelle sind die im Rahmen dieser Promotion verwendeten Chemikalien und deren Gefahrstoffpiktogramme sowie H- und P-Sätze aufgeführt.

Substanz	Gefahrenpiktogramme und Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Aceton	 Gefahr	H225, H319, H336, EUH066	P210, P240, P305+P351+P338, P403+P233
Acetonitril	 Gefahr	H225, H332, H302, H312, H319	P210, P240, P302+P352, P305+P351+P338, P403+P233
Acetylchlorid	 Gefahr	H225, H314	P210, P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310
2-Amino-2-methyl-1-propanol	 Achtung	H315, H319, H412	P264, P273, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P332+P313
7N Ammoniak in Methanol	 Gefahr	H225, H301+H311+H331, H314, H370, H412	P210, P273, P280, P301+P330, P303+P361+P353, P305+P351+P338 +P310
Ammoniak Lösung (25-%ig)	 Gefahr	H314, H335, H410	P261, P273, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338, P310
Benzaldehyd	 Achtung	H302, H332, H319, H335	P280, P301+P310

<b>Benzoessäure</b>	 Gefahr	H315, H318, H372	P260, P264, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P314
<b>N-Benzoyladenin</b>	 Achtung	H302, H317	P261, P264, P270, P272, P280, P301+P317, P352, P321, P333+P317, P362+P364, P501
<b>Benzoylchlorid</b>	 Gefahr	H302+H312, H331, H314, H317	P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310
<b>N,O- Bis(trimethylsilyl)- acetamid</b>	 Gefahr	H226, H302, H314	P210, P223, P280, P302+P352, P305+
<b>Bortrichlorid- Lösung (1 M in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)</b>	 Gefahr	H300+H330, H314, H336, H351	P202, P260, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338
<b>Bortrifluorid- diethyletherat</b>	 Gefahr	H226, H302+H332, H314, H372	P210, P280, p303+P261+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338, P314
<b>3-Brom- benzoessäure</b>	 Achtung	H315, H319, H335	P261, P305+P351+P338
<b>tert- Butyldimethylsilyl- chlorid</b>	 Gefahr	H228, H314	P210, P280, P305+P351+P338, P309, P310
<b>tert-Butyl- hydroxyperoxid</b>	 Gefahr	H226, H242, H302, H311, H330, H314, H317, H341, H411	P210, P220, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353,

	Gefahr		P305+P351+P338, P310
<b><i>n</i>-Butyllithium (1.6 M in Hexan)</b>	 <p>Gefahr</p>	H225, H250, H260, H304, H314, H336, H361f, H411	P210, P231+P232, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P351+P338, P370+P378
<b><i>tert</i>-Butyllithium (1.7 M in Pentan)</b>	 <p>Gefahr</p>	H225, H250, H260, H304, H314, H336, H411	P210, P231+P232, P280, P301+P310, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P305+P351+P338+ P310, P370+P378
<b>Chloroform-<i>d</i></b>	 <p>Gefahr</p>	H302, H331, H315, H319, H351, H361d, H336, H372	P261, P281, P305+P351+P338, P311
<b>DAST</b>	 <p>Gefahr</p>	H226, H302, H312, H314, H332	P280, P305+P351+P338, P310
<b>Dichlorethan</b>	 <p>Gefahr</p>	H225, H302, H331, H315, H319, H335, H350	P201, P210, P240, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P308+P310
<b>Dichlormethan</b>	 <p>Achtung</p>	H315, H319, H335, H336, H351, H373	P261, P281, P305+P351+P338
<b>4,5-Dicyano- imidazole (DCI)</b>	 <p>Gefahr</p>	H315, H318, H335	P261, P264, P271, P280, P302+P352, P305+P351+P338
<b>Diethylether</b>	 <p>Gefahr</p>	H224, H302, H336	P210, P233, P240, P241, P301+P312, P403+P233









<b>Diisopropyl-ethylamin</b>	 Gefahr	H225, H302, H331, H318, H335	P210, P280, P301+P312+P330, P304+P340+P311, P305+P351+P338+ P310
<b>3,4-Dimethoxy-acetophenon</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>4-(Dimethylamino)-pyridin</b>	 Gefahr	H301, H310, H315, H319, H335	P280, P305+P351+P338, P337+P313
<b>N,N-Dimethylformamid</b>	 Gefahr	H226, H312, H332, H319, H360D	P201, P210, P302+P352, P304+P340, P305+P351*P338, P308+P313
<b>Dimethylsulf-oxid-d<sub>6</sub></b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Di-tert-butyl-dicarbonat</b>	 Gefahr	H226, H330, H315, H317, H318, H335	P210, P260, P280, P304+P340+P310, P305+P351+P338+ P310, P370+P378
<b>Essigsäure</b>	 Gefahr	H226, H314	P210, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P305+P351+P338
<b>Essigsäure-anhydrid</b>	 Gefahr	H226, H302, H331, H314, H335	P210, P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312
<b>Essigsäureethyl-ester</b>	 Gefahr	H225, H319, H336, EUH066	P210, P233, P240, P305+P351+P338, P403+P235
<b>Ethanol</b>	 Gefahr	H225, H319	P210, P233, P240, P241, P242, P305+P351+P338









<b>1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimid</b>	 Gefahr	H302, H311, H315, H317, H373, H410	P260, P273, P280, P301+P312, P302+P352+P312, P314
<b>HBTU</b>	 Gefahr	H315, H317, H319, H334, H335	P261, P280, P284, P304, P305, P311, P338, P340, P342, P351
<b>Heptanoylchlorid</b>	 Gefahr	H290, H314, H330	P280, P305+P351+P338, P310, P304+P340, P301+P330+P331, P303+P361+P353
<b>Heptylchlorformat</b>	 Gefahr	H300+H310+H330, H314, H290	P260, P262, P280, P303+P261+P353, P301+P310+P330, P304+P340+P310, P305+P351+P338+ P310, P403+P233
<b>4-Hydroxybenzyl- alkohol</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Iod</b>	 Achtung	H312+H332, H315, H319, H335, H372, H400	P273, P302+P352, P305+P351+P338, P314
<b>Iodemethan</b>	 Gefahr	H301+H331, H312, H315, H335, H351	P201, P280, P301+P310, P302+P352, P304+P340, P311
<b>Kaliumcarbonat</b>	 Achtung	H315, H319, H335	P302+P352, P305+P351+P338
<b>Kaliumhydroxid</b>	 Gefahr	H290, H302, H314	P234, P260, P280, P301+P312, P303+P361+P353, P305+P351+P338

Gefahrstoffverzeichnis








<b>Kupfersulfat</b>	 Gefahr	H302, H318, H410	P273, P280, P305+P351+P338, P313
<b>Lanthan(III)-chlorid-bis(lithiumchlorid)-komplex Lösung</b>	 Gefahr	H225, H290, H302, H317, H318, H335, H336, H351, H412	P210, P273, P280, P301+P312, P305+P351+P338, P308+P313
<b>Methanol</b>	 Gefahr	H225, H331, H311, H301, H370	P210, P233, P280, P302+P352, P304+P340, P308+P310, P403+P235
<b>1-Methylimidazol</b>	 Gefahr	H302, H311, H314	P280, P270, P280, P301+P312+P301+ P330+P331, P303+P361+P353, P305+P351+P338
<b>Methyliodid</b>	 Gefahr	H301+H331, H312, H315, H335, H351	P201, P280, P301+P310, P302+P352, P304+P340, P311
<b>Natriumborhydrid</b>	 Gefahr	H260, H301, H314, H360FD	P231+P232, P260, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338
<b>Natriumchlorid</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Natriumhydrid</b>	 Gefahr	H228, H260, H314	P210, P231+P232, P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338+ P310
<b>Natriumhydrogencarbonat</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Natriumhydroxid</b>	 Gefahr	H290, H314	P280, P301+P330+P331,

Gefahrstoffverzeichnis

			P305+P351+P338, P308+P310
<b>Natriumsulfat</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Natriumthiosulfat</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Nitromethan</b>	 Achtung	H226, H302+H332, H351, H361d	P210, P308+P313
<b>Petrolether</b>	 Gefahr	H225, H304, H315, H336, H361f, H373, H411	P201, P210, P301+P310, P331, P370+P378, P501
<b>Phosphorylchlorid</b>	 Gefahr	H300+H330, H314, H372, EU014, EU029	P290, P301+P330+P331, P304+P340, P305+P351+P338, P308+P310
<b>Pyridin</b>	 Gefahr	H225, H302+ H312+H332, H315, H319	P210, P280, P301+P312, P303+P361+P353, P203+P340+P312, P305+P351+P338
<b>Pyridiniumtrifluoracetat</b>	 Gefahr	H315, H319, H335	P261, P264, P271, P280, P302+P352, P305+P351+P338
<b>Salpetersäure (65 %)</b>	 Gefahr	H272, H290, H314, H331	P210, P220, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338
<b>Salzsäure</b>	 Gefahr	H290, H314, H335	P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338+ P310
<b>Schwefelsäure</b>	 Gefahr	H290, H314	P280, P301+P330+P331,

			P305+P351+P338, P308+P310
<b>TMSOTf</b>	 Gefahr	H226, H314, H335	P261, P280, P305+P351+P338, P310
<b>Tetrabutylammo- niumfluorid (1 M in THF)</b>	 Gefahr	H225, H302, H315, H319, H335, H336, H351, H412	P210, P273, P301+P312, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P308+P313
<b>Tetrahydrofuran</b>	 Gefahr	H225, H302, H319, H335, H351	P210, P280, P301+P312+P330, P305+P351+P338, P370+P378, P403+P235
<b>Thionylchlorid</b>	 Gefahr	H302, H331, H314, H335	P280, P301+P330+P331, P304+P340, P305+P351+P338, P308+P310
<b>Toluol</b>	 Gefahr	H225, H304, H315, H336, H361d, H373	P210, P240, P301+P310+P330, P302+P352, P314, P403+P233
<b>2,4,6-Tichlor- benzoylchlorid</b>	 Gefahr	H314	/
<b>Trifluoressigsäure- anhydrid</b>	 Gefahr	H314, H332, H412	P261, P273, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338
<b>Triethylamin</b>	 Gefahr	H225, H302, H311+H331, H314, H335	P210, P280, P303+P361+P353, P304+P340, P310, P305+P351+P338, P403+P233

Gefahrstoffverzeichnis

<b>Triethylamin·Trihydrofluorid</b>	 Gefahr	H300, H310, H330, H314	P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310
<b>Triethylammoniumbicarbonat-Puffer (1 M in Wasser)</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Triethylsilan</b>	 Gefahr	H225, H315, H319, H335	P210, P233, P240, P241, P303+P361+P353, P305+P351+P338
<b>Trimethylphosphat</b>	 Gefahr	H302, H315, H319, H340+H351	P201, P202, P301+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P308+P313
<b>Trimethylsilyltri- fluormethansulfonat</b>	 Gefahr	H226, H314	P280, P305+P351+P338, P310
<b>Triphenylchlor- methan</b>	 Gefahr	H314, H410	P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310
<b>Vanilin</b>	 Achtung	H319	P305+P351+P338
<b>D-Xylose</b>	Kein gefährlicher Stoff im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG		
<b>Zitronensäure</b>	 Achtung	H319, H335	P261, P264, P271, P280, P304+P340+P312, P305+P351+P338

## 9.2 Verwendete KMR-Stoffe

In der folgenden Tabelle sind die verwendeten KMR-Stoffe, der Kategorien 1A und 1B dargestellt.

<b>CAS-Nummer</b>	<b>Stoffname</b>	<b>Verfahren und eingesetzte Menge</b>	<b>Kategorie</b>
<b>68-12-2</b>	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	Lösungsmittel (1 L)	1B
<b>865-49-6</b>	Deuteriochloroform	NMR-Lösungsmittel (30 mL)	1B
<b>288-32-4</b>	Imidazol	Silylierungsreaganz (10 g)	1B

## 10 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Chris Meier für die Möglichkeit, dieses äußerst interessante Thema im Rahmen meiner Promotion bearbeiten zu dürfen. Zudem danke ich ihm für die sehr guten Arbeitsbedingungen, für den mir gewährten Freiraum und die Übernahme des Erstgutachtens. Herrn Prof. Dr. Ralph Holl danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens. Frau Prof. Dr. Louisa Temme und Herrn Dr. Thomas Hackl danke ich für die Teilname am Dissertationskolloquium.

Ich danke allen Mitarbeiter\*innen des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg, die an dieser Arbeit mitgewirkt haben. Für das Messen zahlreicher NMR-Proben danke ich dem technischen Personal um Herrn Dr. Thomas Hackl. Besonders hervorheben möchte ich dabei Claudia Wontorra und Thorsten Mix, die mir zahlreiche Messtermine ermöglichten. Ebenso danke ich der MS-Abteilung unter der Leitung von Frau Dr. Maria Riedner und Frau Dr. Jennifer Menzel. Mein besonderer Dank gilt Dany Gellert und Erik Mordhorst, für die Aufnahme zahlreicher Spektren und die immer freundliche Hilfe bei jeglichen Fragestellungen und Extrawünschen bezüglich meiner Proben.

Ich danke der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. A. H. Guse für die hervorragende Zusammenarbeit in diesem Projekt. Ein besonderer Dank gilt Dr. Björn-Philipp Diercks, Dr. Mariella Weiß und vor allem Franziska Möckl für den wissenschaftlichen Austausch.

Des Weiteren möchte ich mich beim gesamten Arbeitskreis, sowohl bei den aktuellen als auch bei den ehemaligen Mitgliedern, für die großartige Atmosphäre und jegliche Unterstützung bedanken. Ein besonderer Dank gilt, Dominik Werz, Melanie Hofmann und Sahra Tajdar, für die unvergessliche, witzige und großartige Zeit im Labor 515. Zudem danke ich Michelle Vogts und Iven Knaack für die schöne Zeit im vierten Stock. Danke auch an Celine Fischer. Ihr alle habt meinen Arbeitsalltag durch zahlreichen fachliche und auch durch unzählige nicht fachliche Gespräche bereichert.

Sehr dankbar bin ich meinen Praktikant\*innen Jonah Hasse, Lara Prilop und Gyde Bandowski für die fleißige Mitarbeit an meiner praktischen Arbeit.

Ein besonderer Dank gilt Jana Struck, Jelena Berl, Julian Witt, Iven Knaack und Franziska Möckl, die sich die Zeit für die kritische und zügige Durchsicht meiner Arbeit genommen haben und sie dadurch bereichert haben.

Ich möchte mich bei allen meinen Freunden bedanken, insbesondere bei Paulina und Lynn, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt, motiviert und wenn nötig auch ab und zu abgelenkt haben.

Meiner Familie danke ich von ganzem Herzen für ihre grenzenlose Unterstützung, ohne die ich nie dort angekommen wäre, wo ich jetzt bin. Danke, dass ihr immer für mich da seid.

Zu guter Letzt möchte ich mich ganz besonders bei meinem Mann Niclas bedanken, der mich mit seiner lustigen und liebevollen Art während meines gesamten Studiums unterstützt hat. Ohne dich wäre das alles nicht möglich gewesen. Danke für deine grenzenlose Unterstützung und deinen bedingungslosen Rückhalt.

Vielen Dank!

## 11 Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertationsschrift selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben. Sofern im Zuge der Erstellung der vorliegenden Dissertationsschrift generative Künstliche Intelligenz (gKI) basierte elektronische Hilfsmittel verwendet wurden, versichere ich, dass meine eigene Leistung im Vordergrund stand und dass eine vollständige Dokumentation aller verwendeten Hilfsmittel gemäß der Guten wissenschaftlichen Praxis vorliegt. Ich trage die Verantwortung für eventuell durch die gKI generierte fehlerhafte oder verzerrte Inhalte, fehlerhafte Referenzen, Verstöße gegen das Datenschutz- und Urheberrecht oder Plagiate.

.....

Ort, Datum

.....

Sarah Elisabeth Krukenberg, M. Sc.